

**UNTERSUCHUNGEN ZUR STRAHLENREAKTION
DES UNBEHANDELTEN UND STIMULIERTEN
ZUNGENEPITHEL DER MAUS**

Disbui. München

1988

Wolfgang Dörr



Aus dem Institut für Strahlenbiologie der Gesellschaft
für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg

Direktor: Prof. Dr. U. Hagen

Arbeit angefertigt unter Leitung von Dr. J. Kummermehr

vorgelegt über: Prof. Dr. K. Tempel
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. R. Schulz

UNTERSUCHUNGEN ZUR STRAHLENREAKTION DES UNBEHANDELTEN
UND STIMULIERTEN ZUNGENEPITHEL DER MAUS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wolfgang Dörr
aus Pörbau

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. M. Rüsse
Referent:	Prof. Dr. K. Tempel
Korreferent:	Prof. Dr. Dr. D. Stavrou

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

1.	Einleitung	1
2.	Die Familie	2
3.	Die Erziehung	3
4.	Die Arbeit	4
5.	Die Freizeit	5
6.	Die Gesundheit	6
7.	Die Religion	7
8.	Die Politik	8
9.	Die Kunst	9
10.	Die Wissenschaft	10
11.	Die Philosophie	11
12.	Die Literatur	12
13.	Die Musik	13
14.	Die Malerei	14
15.	Die Skulptur	15
16.	Die Architektur	16
17.	Die Gartenkunst	17
18.	Die Landschaftsarchitektur	18
19.	Die Stadtplanung	19
20.	Die Verkehrsplanung	20
21.	Die Umweltschutz	21
22.	Die Energie	22
23.	Die Wasser	23
24.	Die Luft	24
25.	Die Erde	25
26.	Die Sonne	26
27.	Die Sterne	27
28.	Die Galaxien	28
29.	Die Universum	29
30.	Die Zukunft	30

Meiner Familie

31.	Die Familie	31
32.	Die Erziehung	32
33.	Die Arbeit	33
34.	Die Freizeit	34
35.	Die Gesundheit	35
36.	Die Religion	36
37.	Die Politik	37
38.	Die Kunst	38
39.	Die Wissenschaft	39
40.	Die Philosophie	40
41.	Die Literatur	41
42.	Die Musik	42
43.	Die Malerei	43
44.	Die Skulptur	44
45.	Die Architektur	45
46.	Die Gartenkunst	46
47.	Die Landschaftsarchitektur	47
48.	Die Stadtplanung	48
49.	Die Verkehrsplanung	49
50.	Die Umweltschutz	50
51.	Die Energie	51
52.	Die Wasser	52
53.	Die Luft	53
54.	Die Erde	54
55.	Die Sonne	55
56.	Die Sterne	56
57.	Die Galaxien	57
58.	Die Universum	58
59.	Die Zukunft	59
60.	Die Familie	60
61.	Die Erziehung	61
62.	Die Arbeit	62
63.	Die Freizeit	63
64.	Die Gesundheit	64
65.	Die Religion	65
66.	Die Politik	66
67.	Die Kunst	67
68.	Die Wissenschaft	68
69.	Die Philosophie	69
70.	Die Literatur	70
71.	Die Musik	71
72.	Die Malerei	72
73.	Die Skulptur	73
74.	Die Architektur	74
75.	Die Gartenkunst	75
76.	Die Landschaftsarchitektur	76
77.	Die Stadtplanung	77
78.	Die Verkehrsplanung	78
79.	Die Umweltschutz	79
80.	Die Energie	80
81.	Die Wasser	81
82.	Die Luft	82
83.	Die Erde	83
84.	Die Sonne	84
85.	Die Sterne	85
86.	Die Galaxien	86
87.	Die Universum	87
88.	Die Zukunft	88
89.	Die Familie	89
90.	Die Erziehung	90
91.	Die Arbeit	91
92.	Die Freizeit	92
93.	Die Gesundheit	93
94.	Die Religion	94
95.	Die Politik	95
96.	Die Kunst	96
97.	Die Wissenschaft	97
98.	Die Philosophie	98
99.	Die Literatur	99
100.	Die Musik	100
101.	Die Malerei	101
102.	Die Skulptur	102
103.	Die Architektur	103
104.	Die Gartenkunst	104
105.	Die Landschaftsarchitektur	105
106.	Die Stadtplanung	106
107.	Die Verkehrsplanung	107
108.	Die Umweltschutz	108
109.	Die Energie	109
110.	Die Wasser	110
111.	Die Luft	111
112.	Die Erde	112
113.	Die Sonne	113
114.	Die Sterne	114
115.	Die Galaxien	115
116.	Die Universum	116
117.	Die Zukunft	117
118.	Die Familie	118
119.	Die Erziehung	119
120.	Die Arbeit	120
121.	Die Freizeit	121
122.	Die Gesundheit	122
123.	Die Religion	123
124.	Die Politik	124
125.	Die Kunst	125
126.	Die Wissenschaft	126
127.	Die Philosophie	127
128.	Die Literatur	128
129.	Die Musik	129
130.	Die Malerei	130
131.	Die Skulptur	131
132.	Die Architektur	132
133.	Die Gartenkunst	133
134.	Die Landschaftsarchitektur	134
135.	Die Stadtplanung	135
136.	Die Verkehrsplanung	136
137.	Die Umweltschutz	137
138.	Die Energie	138
139.	Die Wasser	139
140.	Die Luft	140
141.	Die Erde	141
142.	Die Sonne	142
143.	Die Sterne	143
144.	Die Galaxien	144
145.	Die Universum	145
146.	Die Zukunft	146
147.	Die Familie	147
148.	Die Erziehung	148
149.	Die Arbeit	149
150.	Die Freizeit	150
151.	Die Gesundheit	151
152.	Die Religion	152
153.	Die Politik	153
154.	Die Kunst	154
155.	Die Wissenschaft	155
156.	Die Philosophie	156
157.	Die Literatur	157
158.	Die Musik	158
159.	Die Malerei	159
160.	Die Skulptur	160
161.	Die Architektur	161
162.	Die Gartenkunst	162
163.	Die Landschaftsarchitektur	163
164.	Die Stadtplanung	164
165.	Die Verkehrsplanung	165
166.	Die Umweltschutz	166
167.	Die Energie	167
168.	Die Wasser	168
169.	Die Luft	169
170.	Die Erde	170
171.	Die Sonne	171
172.	Die Sterne	172
173.	Die Galaxien	173
174.	Die Universum	174
175.	Die Zukunft	175
176.	Die Familie	176
177.	Die Erziehung	177
178.	Die Arbeit	178
179.	Die Freizeit	179
180.	Die Gesundheit	180
181.	Die Religion	181
182.	Die Politik	182
183.	Die Kunst	183
184.	Die Wissenschaft	184
185.	Die Philosophie	185
186.	Die Literatur	186
187.	Die Musik	187
188.	Die Malerei	188
189.	Die Skulptur	189
190.	Die Architektur	190
191.	Die Gartenkunst	191
192.	Die Landschaftsarchitektur	192
193.	Die Stadtplanung	193
194.	Die Verkehrsplanung	194
195.	Die Umweltschutz	195
196.	Die Energie	196
197.	Die Wasser	197
198.	Die Luft	198
199.	Die Erde	199
200.	Die Sonne	200

1.	EINLEITUNG	5
2.	MATERIAL UND METHODEN	8
2.1	Versuchstiere	8
2.2	Bestrahlungsanlagen	8
2.2.1	Externe Schnauzenbestrahlung	8
2.2.2	Lokale Bestrahlung der Zunge	9
2.2.2.1	Siemens-Dermopan-Anlage	9
2.2.2.2	Philips-Röntgeneinrichtung PW 1130	9
2.3	Versuchsaufbau	10
2.3.1	Bestimmung der Halbwertstiefe	10
2.3.2	Externe Schnauzenbestrahlung	10
2.3.3	Lokale Bestrahlung der Zungenunterseite der Maus	13
2.3.4	Lokale Bestrahlung der Zungenunterseite der Ratte	16
2.4	Versuchsdurchführung	17
2.4.1	Anästhesie	17
2.4.2	Dosimetrie	18
2.4.2.1	Schnauzenbestrahlung	18
2.4.2.2	Bestrahlung der Zungenunterseite	18
2.4.3	Beurteilung der Strahlenreaktion	19
2.4.4	Auswertung der Daten	20
2.4.5	Topische Applikation von Substanzen	20
2.4.5.1	Silbernitrat-Lösung	20
2.4.5.2	Essigsäure	21
2.4.5.3	Wasserstoffperoxid	21
2.4.6	Zellkinetische Untersuchungen	21
2.4.6.1	Stathmokinetiche Untersuchungen	21
2.4.6.2	Kombinierte Markierungs- und stathmokinetiche Experimente	22
2.4.7	Histologische Präparation und Vorgehen zur histologischen Auswertung	22
2.5	Durchgeführte Experimente	23
2.5.1	Übersicht	23
2.5.1.1	Bestrahlungsversuche	23
2.5.1.2	Untersuchungen zur Normalkinetik	26
2.5.1.3	Zellkinetische Untersuchungen zur Stimulierbarkeit der Proliferation	27

2.5.2	Beschreibung der einzelnen Versuche	27
2.5.2.1	Bestrahlungsversuche	27
2.5.2.2	Untersuchungen zur Proliferationskinetik	31
2.5.2.3	Zellkinetische Untersuchungen nach lokaler Applikation verschiedener Agenzien	34
3.	ERGEBNISSE	38
3.1	Anatomie und Histologie der Zunge bzw. des Zungenepithels	38
3.2	Proliferationskinetik des Epithels der Zungenunterseite	41
3.2.1	Methode der Metaphasen-Arretierung VLB-Dosis und Sammelintervall	41
3.2.2	Diurnale Rhythmik der proliferativen Aktivität	43
3.2.3	Tägliche Proliferation und Turnover-Zeit	44
3.2.4	Zeitliche Beziehung zwischen S-Phase und Mitose	45
3.2.5	Einfluß von Hexobarbital-Narkosen auf die mitotische Aktivität	48
3.3	Strahlenreaktion des Epithels der Zungenunterseite	50
3.3.1	Halbwertstiefen und Dosisleistungen der (weichen) Röntgenstrahlen	50
3.3.2	Klinisches Bild der Strahlenreaktion	52
3.3.3	Histologische Veränderungen nach Einzeitbestrahlung	55
3.3.4	Dosisabhängigkeit der Ulcusfrequenz nach Einzeitbestrahlung mit 25 kV und 29 kV	56
3.3.5	Einfluß der Narkoseart auf die Strahlenreaktion nach Einzeldosen	57
3.3.6	Einfluß der Dosis-Fraktionierung auf die Strahlenreaktion	58
3.3.7	Repopulierungsleistung des Epithels bei konventioneller Fraktionierung	61
3.4	Einfluß lokaler Maßnahmen auf die Proliferationsrate	64
3.4.1	Applikation von Silbernitratlösung	64
3.4.2	Wirkung von Essigsäure	68
3.4.3	Einfluß von Wasserstoffperoxid	69

3.5	Auswirkungen der Stimulation auf die Strahlenreaktion	71
3.5.1	Reaktion des stimulierten Epithels auf Einzeldosen	71
3.5.2	Wirkung der Vorbehandlung auf die Reaktion nach fraktionierter Bestrahlung	72
3.6	Strahlenreaktion des Epithels der Rattenzunge auf Einzeitbestrahlung	73
4.	DISKUSSION	75
4.1	Akute Strahlenreaktion bei Normalgeweben	75
4.2	Eigenschaften und Proliferationskinetik des Zungenepithels	76
4.3	Strahlenreaktion der Mukosa	82
4.4	Strahlenreaktion mitbestrahlter Gewebe	86
4.5	Dosisabhängigkeit der Strahlenwirkung	87
4.6	Abhängigkeit der Strahlenreaktion von der Dosis-Fraktionierung	89
4.7	Regenerationsleistung des Zungenepithels	94
4.8	Stimulation der Regenerationsleistung des Zungenepithels	96
4.9	Ausblick	100
5.	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	101
6.	LITERATURVERZEICHNIS	104

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

F_e -Diagramm	- Auftragung des Reziprokwertes der Gesamtdosis bei fraktionierter Strahlenbehandlung als Funktion der Dosis pro Fraktion
3H -TdR	- mit Tritium markierte Thymidin-Desoxyribose
KGW	- Körpergewicht
LO-Modell	- linear-quadratisches Modell der Strahlenwirkung
PLM	- Prozentsatz markierter Metaphasen (percentage of labeled metaphases)
SAS	- Statistical analysis system
SD	- Einzelbestrahlung (single doses)
SPF	- spezifiziert pathogenfrei
TT	- Turnover-Time (Gewebsumsatzzeit)
VLR	- Vinblastin
$\bar{x} \pm SD$	- arithmetischer Mittelwert $\pm$ Standardabweichung
$\bar{x} \pm SEM$	- arithmetischer Mittelwert $\pm$ standard error of the mean

1. EINLEITUNG

Im Mittelpunkt der Therapie fortgeschrittener Tumoren im Kopf-Hals-Bereich des Menschen steht heute die Strahlenbehandlung. Sie wird allein oder auch in Kombination mit chirurgischen Maßnahmen oder Chemotherapie angewandt. Kurative Bestrahlungen werden v.a. nach konventionellem Fraktionierungsschema, z.B. 5 Bestrahlungen pro Woche mit je 2 Gy, durchgeführt, so daß in 6 Wochen Behandlungszeit sehr hohe Gesamtdosen von 60 Gy erreicht werden (67).

Durch Bestrahlungen in diesem Dosisbereich, und da das zu bestrahlende Volumen meist sehr groß gewählt werden muß, treten immer Nebenwirkungen von Seiten verschiedenster Gewebe auf. Dies sind v.a. chronische Veränderungen, wie Atrophie der Kopfspeicheldrüsen (16, 47, 55, 67, 84), Entstehung von Fibrosen und chronischen Ödemen (45, 67, 78), sowie chronische Ulzerationen (51, 67), die zu Schluckstörungen führen.

Subakute bis chronische Veränderungen betreffen den Geschmackssinn (18, 59), sind jedoch teilweise reversibel.

Fast immer allerdings ist das Auftreten einer Mukositis eine schwerwiegende akute Nebenwirkung. Sie entwickelt sich bei konventioneller Fraktionierung ca. 2 Wochen nach Behandlungsbeginn als disseminiert-circumscripte Form mit Schluckschmerz. Diese geht dann durch Konfluation in die diffuse Entzündung über. Meist wird, da auch extreme Mundhygiene und andere Maßnahmen den Zustand der Patienten nicht immer beeinflussen können, eine Unterbrechung der Therapie für 2-4 Wochen erzwungen, um die Veränderungen ausheilen zu lassen (24). Die klinische Konsequenz war, daß Strahlenbehandlungen in zwei größeren Blöcken, getrennt durch ein bestrahlungsfreies Intervall (sog. split course), durchgeführt wurden.

Empirisch wurde hierbei festgestellt, daß die Mukositis in der zweiten Behandlungshälfte milder verläuft, was auf regenerative Vorgänge zurückzuführen ist, die in der Bestrahlungspause wirksamer sind als unter kontinuierlicher Therapie.

Diese Methode hat jedoch einen gravierenden Nachteil: analog zur Zellproliferation in der Mukosa tritt auch eine Vermehrung klonogener Tumorzellen auf. Da es sich bei diesen Tumoren v.a. um Plattenepithelcarcinome mit hoher Proliferationsrate handelt, stellt dieser Vorgang einen nicht zu unterschätzenden Faktor beim Anstieg der Strahlenresistenz dar (52, 61, 75).

Deshalb wird in neueren klinischen Studien die Wirkung der akzelerierten Fraktionierung, mit und ohne Behandlungspause, erprobt (36, 41, 66, 78, 79, 80, 82, 83). Bei diesem Behandlungsschema wird die Gesamtzeit durch 2-3 Bestrahlungen pro Tag verkürzt, wobei die Dosen je Fraktion und die Gesamtdosis der konventionellen Fraktionierung entsprechen (73). Eine Variante dieses Protokolls stellt die begleitende Boost-Therapie dar (45), bei der neben der konventionellen Fraktionierung in einem bestimmten Zeitraum eine zweite tägliche Strahlendosis auf ein kleineres Feld appliziert wird.

Die chronischen Schäden werden davon nicht beeinflusst, da sie stark von der Dosis pro Fraktion, und weniger von der Gesamtbehandlungszeit abhängig sind. Allerdings wird die Mukositis durch diese Fraktionierungsprotokolle extrem verstärkt (41, 45).

Tierexperimentelle Studien zum Problem der strahleninduzierten Mukositis wurden bereits 1956 durchgeführt (64). Als Endpunkt diente der Tod von Mäusen nach 9-10 Tagen, wobei das bestrahlte Volumen variiert wurde. Versuche dieser Art (LD_{50} -Bestimmung) sind jedoch aus Tierschutz-Gründen abzulehnen.

In den letzten Jahren wurde aus den Studien an der Mäusenhaut (Fuß: 5, 20, 21, 26; Rücken: 22, 88) auf die Reaktion der Mukosa geschlossen.

Haut und Mukosa sind jedoch in einigen Punkten (Turn-over-Zeit, Strahlenempfindlichkeit, Regenerationsleistung) so verschieden, daß probatere Modelle entwickelt werden mußten (60).

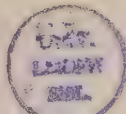
1983 wurde ein Tiermodell entwickelt, das auf der Strahlenreaktion der Mukosa/Epidermis der Mäuselippe basiert (60, 92). Untersuchungen an diesem Gewebe dienten der Feststellung der Strahlenempfindlichkeit und der Einwirkung der zeitlichen Dosisverteilung, wie Fraktionierungseffekt, Repopulierungsleistung, Erholung in Bestrahlungspausen (2, 3, 4, 49). Auch die Wechselwirkungen verschiedener Zytostatika mit Einzeit- und fraktionierter Bestrahlung wurden experimentell erarbeitet (23, 48, 50, 81). Allerdings besteht die Gefahr, daß die rein mukosale Reaktion durch die rasche Desquamation der Schnauzenepidermis verschleiert wird.

Als weiteres spezifisches Tiermodell wurde 1986 die Zungenschleimhaut der Maus vorgestellt (46, 57). Ein wesentlicher Vorteil hierin ist, daß ein intraorales Epithel untersucht wird, welches in seiner Struktur und seinem physiologischen Verhalten der humanen Mundschleimhaut wesentlich nähersteht.

Erste Untersuchungen an diesem Modell dienten der Definition der Strahlenreaktion und deren Pathogenese, der Dosis- und der Zeitfaktorabhängigkeit. Weiter wurden zellkinetische Abläufe ohne bzw. nach Bestrahlung untersucht.

In der vorliegenden Arbeit werden an diesem modifizierten und erweiterten Modell Untersuchungen zur Regenerationsleistung während konventioneller Fraktionierung, sowie Möglichkeiten zu deren Stimulation durch lokale Maßnahmen durchgeführt.

Die Wirksamkeit dieser Maßnahmen wurde in zellkinetischen Untersuchungen bestimmt, die begleitet wurden von Studien zur physiologischen Proliferationskinetik des Epithels. Funktionell wurde der Effekt der Konditionierung durch Einzeitbestrahlungen und Fraktionierungsversuche definiert.



2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Alle Untersuchungen wurden an C3H-Mäusen im Alter von acht bis zwölf Wochen durchgeführt. In den Versuchen 9, 10-1 und 10-3 wurden männliche, in allen anderen Versuchen weibliche Tiere verwendet.

Eine Ausnahme stellt Versuch 11 dar, der an weiblichen Wistar-Ratten im Alter von 6 Monaten durchgeführt wurde.

Alle Versuchstiere entstammen der Zucht der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, und wurden in deren Tierställen unter SPF-Konditionen gehalten. Lediglich im Frühstadium der Untersuchungen mußten die Tiere in einen nicht spezifisch pathogenfreien Stall überführt werden.

Das Lichtprogramm in den Ställen sieht einen 12/12-Hell-Dunkelrhythmus mit Wechsel um 07.00 bzw. 19.00 Uhr vor. Die Tiere erhielten Ratten/Mäuse-Standardfutter 'Altromin' der Fa. Altrogge, Lage, und Trinkwasser ad libidum.

Vor der Aufnahme in eine Versuchsgruppe wurde jedes Tier mittels Ohrenmarkierung individuell gekennzeichnet.

2.2 Bestrahlungsanlagen

2.2.1 Externe Schnauzenbestrahlung

Eine externe Bestrahlung des Gesichtsschädels und der Mundhöhle der Versuchstiere wurde mit einer Röntgenanlage Isovolt 320 der Fa. Seifert, Ahrensburg, durchgeführt.

Die Röhrenspannung betrug bei allen Versuchen 300 kV, der Röhrenstrom wurde je nach einzustrahlender Dosis zwischen 3 und 13 mA variiert, um durch ausreichende Bewegung der Drehvorrichtung (siehe 2.3.2) eine bessere Dosishomogenität zu erreichen. Außer durch ein Berylliumfenster wurde die Strahlung noch mit 0,5 mm Cu und 1 mm Al gefiltert. Der Fokus-Objekt-Abstand betrug 22 cm.

2.2.2 Lokale Bestrahlung der Zunge

2.2.2.1 Siemens-Dermopan-Anlage

Bei den Versuchen 1 bis 3 erfolgte die Bestrahlung mit diesem Gerät, dessen Standort die Räume des Instituts für Strahlenbiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, Schillerstraße 42, 8000 München 2, war.

Die verwendete Röhrenspannung betrug 29 kV, der Kathodenstrom 20 mA (Stufe III des Geräts); die sich ergebende Dosisleistung war 4,15 Gy/min. Im vertikalen Strahlengang befand sich ein 0,3 mm Aluminiumfilter. Der Fokus-Objekt-Abstand betrug 15,5 cm.

2.2.2.2 Philips-Röntgeneinrichtung PW 1130

Ab Versuch 4 wurden die lokalen Bestrahlungen mit dieser Anlage durchgeführt, die sich in den Tierställen der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung befand.

Die verwendete Spannung betrug 25 kV, der Heizstrom 10, 15 oder 20 mA. Die resultierende Dosisleistung im Fokus-Objekt-Abstand war 4,79, 7,14 bzw. 9,53 Gy/min.

Im - ebenfalls vertikalen - Strahlengang befand sich ein Filter aus 0,3 mm Aluminium. Der Abstand des Fokus zur Zungenunterseite betrug 15,5 cm.

2.3 Versuchsaufbau

2.3.1 Bestimmung der Halbwertstiefe

Um die verschiedenen zur lokalen Bestrahlung verwendeten Strahlenqualitäten genauer zu charakterisieren, wurde die Halbwertstiefe in Plexiglas bestimmt.

Hierzu wurde der Versuchsaufbau entsprechend der Bestrahlung verwendet, jedoch wurden auf das Strahleneintrittsfenster der Ionisationskammer (s. 2.4.2.2) ein bis fünf Plexiglas-Plättchen mit den Abmessungen 4 x 2,5 x 0,2 cm aufgelegt.

Bestimmt wurde die Zeit, die ohne bzw. mit den verschiedenen Plexiglasstärken bis zum Erreichen einer Dosis von 10 Gy benötigt wurde.

2.3.2 Externe Schnauzenbestrahlung

Eine lokale Bestrahlung der Zungenunterseite ist nur mit Vorlagerung der Zunge aus der Maulhöhle zu erreichen. Um bei Fraktionierungsversuchen diese wiederholten mechanischen Irritationen der Zunge zu vermeiden, wurde hier die externe Bestrahlung angewandt. Die dadurch bedingte Resttoleranz des Epithels wurde dann durch eine lokale 'Top-up'-Bestrahlung bestimmt. Diese experimentelle Methodik wird auch von anderen Untersuchern angewandt (2, 42, 43). Es erfolgte eine Simultanbestrahlung von jeweils fünf Tieren in Form einer Karussellbestrahlung.

Hierzu wurde eine runde Kunststoffplatte mit einem Durchmesser von 40 cm verwendet. Eine Aussparung in dieser Platte diente zur standardisierten Befestigung auf der fest installierten Drehvorrichtung (Elektromotor). An dieser Drehvorrichtung befand sich auch die Halterung zur Aufnahme der Ionisationskammer.

Mittels einer Bleiplatte (6 mm Dicke) mit entsprechenden Bohrungen wurde der strahlenexponierte Bereich auf die Schnauzen der Tiere begrenzt (siehe Abb.1).

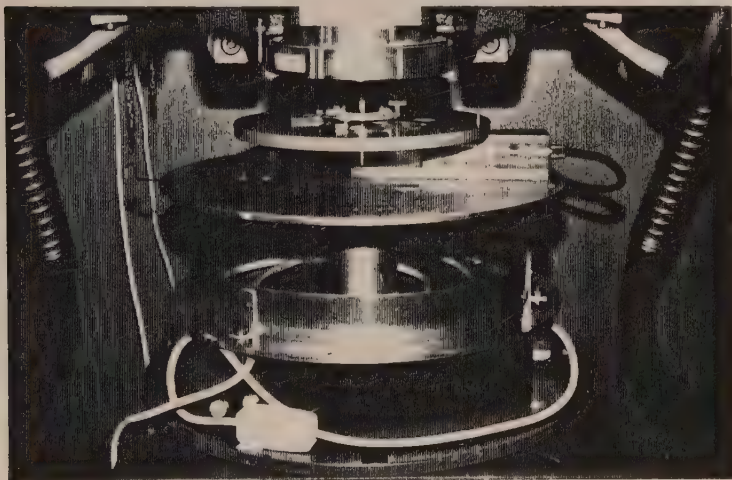


Abb. 1: Drehvorrichtung zur Simultanbestrahlung der Schnauze

Das Basisgestell enthält den Elektromotor, der durch den außen angebrachten Schalter bedient wird. Drei höhenverstellbare Füße dienen der Horizontaleinstellung. Die drehbare Metallplatte trägt die Ionisationskammer und die Bleiplatte zur Begrenzung des Strahlenfeldes. Die gesamte Vorrichtung ist zentral unter dem Tubus der Röhre aufgestellt.

Auf der Kunststoffplatte wurden die Tiere so gelagert, daß die Schnauze im Strahlengang fixiert war. Dies erfolgte durch fest angebrachte Plexiglas-Blöcke, die mit einer konischen Bohrung zur Aufnahme der Schnauze versehen waren. Bei der Schnauzenbestrahlung in Narkose wurde die Retraktion der Tiere durch einen Metallbügel verhindert, der im Nacken der Tiere angebracht wurde (siehe Abb.2).



Abb. 2: Fixation der Versuchstiere zur Schnauzenbestrahlung in Narkose

Im Verlauf der Untersuchungen ergaben sich jedoch Hinweise, daß die Narkose Einfluß auf die Strahlenreaktion hat, so daß ein System zur externen Bestrahlung ohne Narkose entwickelt werden mußte. Hierzu wurden die Nackenbügel durch das Anbringen von 20-ml-Einmalspritzen (vorne abgeschnitten) ersetzt, in denen die Tiere durch den Spritzenstempel fixiert wurden (Abb. 3).

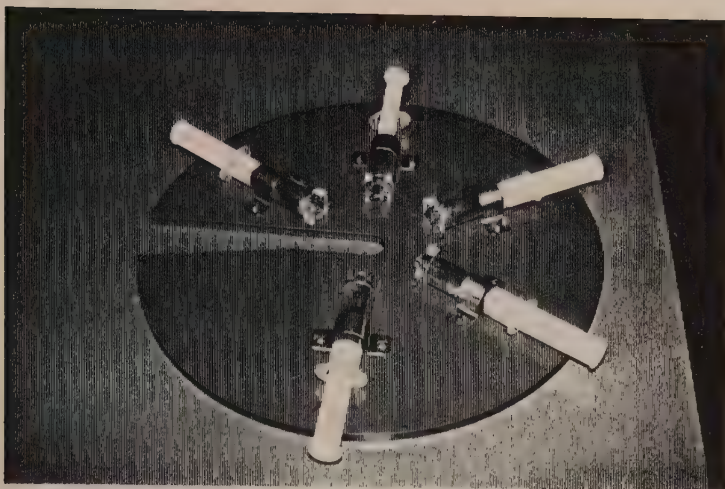


Abb. 3: Lagerung der Tiere zur externen Bestrahlung
ohne Narkose

2.3.3 Lokale Bestrahlung der Zungenunterseite der Maus

Um nur die Zunge bzw. die Zungenunterseite der Tiere zu bestrahlen, mußte der restliche Tierkörper mittels Aluminium abgeschirmt werden. Hierzu diente ein quaderförmiger Al-Block mit den Abmessungen 13 x 4 x 4 cm. In der Längsachse dieses Blockes war eine zylindrische Bohrung (Durchmesser 2,5 cm) angebracht, in die die (narkotisierten) Tiere in Rückenlage gelegt wurden, nachdem die Zunge mittels einer Pinzette aus dem Cavum oris vorgelagert worden war.

Durch eine weitere kleine Bohrung in der Oberseite des Blockes wurde die Zunge - wiederum mit einer feinen Pinzette - nach außen geführt. Dort wurde sie, wie in Abb. 4 gezeigt, mit Doppelklebeband und Pflaster so befestigt, daß die Zungenoberseite dem Block anlag.

Um übermäßigen Zug am Zungengrund zu verhindern wurde der Kopf der Tiere durch das Einbringen eines Styroporkeiles unterstützt.

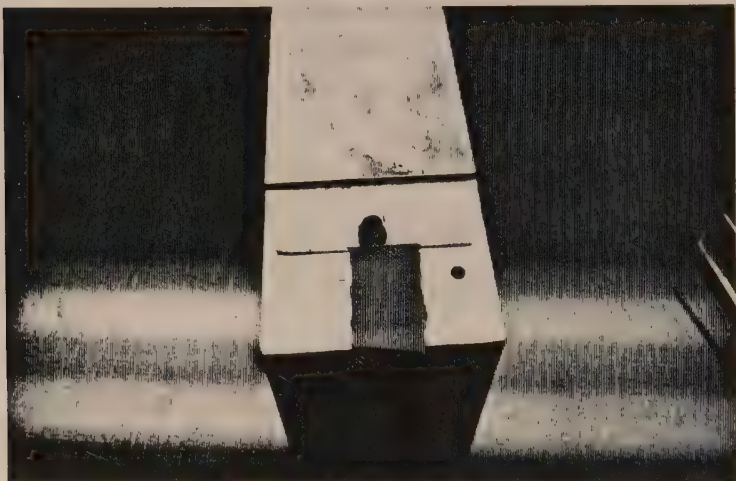


Abb. 4: Fixation der Zunge zur lokalen Bestrahlung
Die Zunge ist auf der Oberseite des Blockes
so fixiert, daß die Unterseite mit dem Sul-
cus medianus sichtbar ist.

Da die Struktur des Zungenunterseiten-Epithels nicht einheitlich ist, sondern die Ränder und die Spitze papillenbildend sind, während die reine Unterseite flaches Epithel trägt (siehe Abb. 9), mußte das strahlenexponierte Feld weiter eingeschränkt werden. Hierzu wurde auf der Zunge ein Aluminiumplättchen (40 x 20 x 1 mm) mit um 1 mm erhöhten Seitenrändern (gegen Druck auf die Zunge) so positioniert, daß eine in ihm angebrachte quadratische Aussparung von 3 x 3 mm Größe ca. 1,5 mm hinter der Zungenspitze und in gleichem Abstand von den Rändern zu liegen kam.

Dieses wurde ebenfalls durch das Doppelklebeband, wahlweise auch durch eine Schraube, fixiert. Den Endzustand zur Bestrahlung zeigt Abb. 5.

Um während der Bestrahlung ein Auskühlen der Tiere zu verhindern wurde der Aluminiumblock mittels einer elektrischen Heizdecke auf 37° C vorgewärmt.

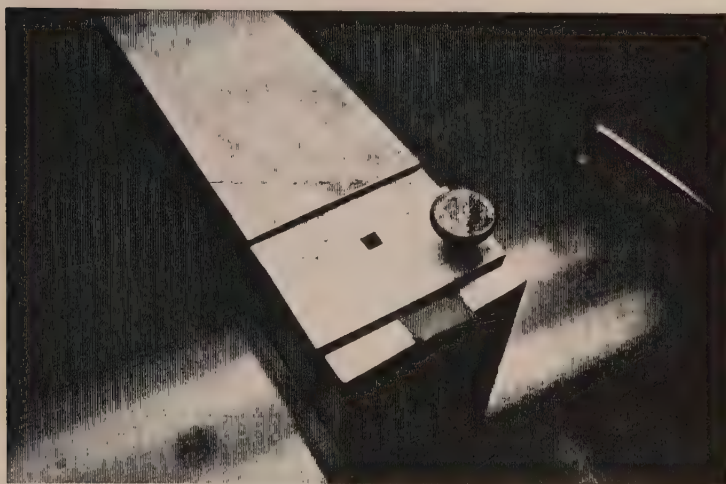


Abb. 5: Lagerung der Maus und Abdeckung der Zunge zur lokalen Bestrahlung
Durch die quadratische Aussparung im Abdeck-Plättchen ist der strahlenexponierte Bereich der Zungenunterseite sichtbar.

Der mit dem Versuchstier beladene Bestrahlungsblock wurde dann in eine fest mit der Röntgenröhre verbundene Halterung gelegt, um eine genaue Positionierung der Zunge im Zentralstrahl zu garantieren. Ebenfalls in dieser Halterung befand sich - wie aus Abb. 6 ersichtlich - eine Vorrichtung zur Aufnahme der Ionisationskammer.

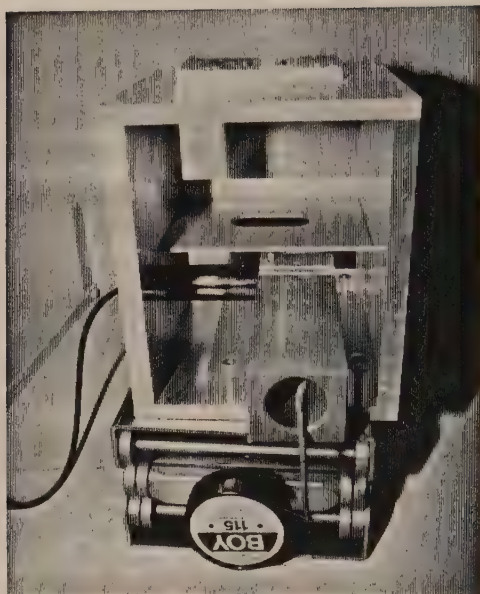


Abb. 6: Halterung des Abschirmblockes zur lokalen Bestrahlung
Der Aluminiumblock ist in der Halterung fixiert. Durch die linke Seitenwand der Vorrichtung ist die Ionisationskammer befestigt.

2.3.4 Lokale Bestrahlung der Zungenunterseite der Ratte

Der Versuchsaufbau zu dieser Bestrahlung gleicht im Prinzip dem unter 2.3.3 beschriebenen. Allerdings wurde das Tier in Rückenlage in einen oben offenen Styroporblock mit entsprechender Aushöhlung gelegt und die Oberseite des Blockes mit 0.5 mm dickem Aluminiumblech abgedeckt.

Die Zunge wurde ebenfalls durch eine Öffnung in dieser Abdeckung nach außen geführt und dort fixiert. Zur Eingrenzung des Expositionsfeldes bei den Tieren 2 und 4 diente ein Aluminiumplättchen mit einer Öffnung von 6x6 mm.

2.4 Versuchsdurchführung

2.4.1 Anästhesie

Bei Versuch 1 und 1a erfolgte eine Inhalationsnarkose mit einem Enfluran¹⁾-O₂-Gemisch (35 Vol% Enfluran) im offenen System: nach einer Vornarkose in einem abgeschlossenen Glaszylinder wurde das Tier hieraus entnommen. Nach der oben beschriebenen Lagerung im Bestrahlungsblock wurde an diesem - mittels eines Gummistopfens - die Gaszuleitung vor der Schnauze des Tieres angebracht.

Die Schnauzenbestrahlung bei den Versuchen 6, 9 und 10, die lokale Zungenbestrahlung ab Versuch 2 und die Begutachtung der Strahlenreaktion, sowie auch die lokale Applikation von Substanzen erfolgte unter Injektionsnarkose.

Verwendet wurde hierzu Hexobarbital-Na²⁾ in der Dosierung von ca. 0,15 ml der 2%igen Lösung (entspricht ca. 150 mg/kg KGW). Die Applikation erfolgte intraperitoneal. Diese Narkose wurde auch bei der Untersuchung des Narkoseeinflusses auf die Proliferation (Versuch K5) verwendet.

Bei der Bestrahlung der Rattenzunge erfolgte die Narkose durch intraperitoneale Applikation von Ketamin³⁾ in der Dosierung von ca. 100 mg/kg KGW. Die Anästhesie zur Begutachtung der Reaktion erfolgte hier durch Inhalation von Äther.

-
- 1) Ethrane[®], Deutsche Abbott GmbH, 6200 Wiesbaden
2) Evipan[®], Bayer Leverkusen, 5090 Leverkusen
3) Ketavet[®], Parke Davis u. Co., 7800 Freiburg

2.4.2 Dosimetrie

Alle zur Dosismessung verwendeten Geräte wurden von der Fa. Physikalisch-technische Werkstätten Dr.Pychlau, Freiburg, bezogen.

2.4.2.1 Schnauzenbestrahlung

Zur Dosismessung diente eine Ionisationskammer in der Spitze eines flexiblen Gummischlauches, die an ein Simplex-Universal-Dosimeter angeschlossen war. Die Kammer war in einer Halterung an der Drehvorrichtung zur Bestrahlung (siehe Abb. 1) so angebracht, daß ihre Lage genau der Objektposition entsprach. Somit war die gemessene Dosis gleich der Ortsdosis der Schnauze. Der durch die Schnauzenhalterungen und durch über der Zunge liegende Gewebe bedingte Abfall in der Dosis ist bei der verwendeten Strahlenqualität gering und deshalb zu vernachlässigen.

Vor jeder Bestrahlung erfolgte eine Kalibrierung mittels einer Sr-90 Kontrollvorrichtung.

2.4.2.2 Bestrahlung der Zungenunterseite

Die Dosimetrie bei der Siemens-Dermopan-Anlage erfolgte mit einer Weichstrahl-Ionisationskammer vom Typ M 23342, die an ein Dosimeter des Typs Dosimeter II angeschlossen war.

An der Philips-Röntgenröhre wurde ebenfalls eine Weichstrahlkammer Typ M 23342 verwendet; als Dosimeter diente ein 'Dosimentor SN 4'.

Die Ionisationskammer wurde durch eine Öffnung in der Seitenwand der Blockhalterung so positioniert, daß sich ihre Strahleneintrittsmembran genau auf Höhe der Zungenunterseite im Zentralstrahl befand.

Die gemessene Dosis entsprach somit der Oberflächendosis der Zungenunterseite.

Mittels einer Sr-90 Kontrollvorrichtung wurde vor jeder Bestrahlung eine Kalibrierung durchgeführt.

2.4.3 Beurteilung der Strahlenreaktion

Die Beurteilung der Veränderungen erfolgte - mit Ausnahme von Versuch 1a - rein makroskopisch.

Den narkotisierten Tieren wurde mit einer feinen Pinzette die Zunge aus der Maulhöhle vorgelagert, ohne sie zu traumatisieren oder das strahlenexponierte Feld zu berühren. Die Betrachtung erfolgte bei Kunstlicht mit bloßem Auge und mit Lupenvergrößerung (3x).

Die zur Beurteilung herangezogenen Symptome waren Rötung, Schwellung, Desquamation in drei verschiedenen Graden (+ bis +++) und ulzerative Läsionen. Letztere zeigen die deutlichste Dosisabhängigkeit und wurden deshalb in Form eines Ja-Nein-Systems als Kriterium der individuellen Strahlenreaktion verwendet.

Die Tiere wurden täglich vom Auftreten erster Reaktionen bis zur Ausheilung der ulzerativen Veränderungen beobachtet.

Die Bewertung der Veränderungen unter Anwendung eines numerischen Maßstabes, wie beim Menschen (79) und bei der Mäuselippe (60, 82, 92), führt beim Zungenepithel zu keinem befriedigendem Ergebnis, da sich aufgrund des kleinen Expositionsfeldes die auftretenden Kardinalsymptome nicht weiter differenzieren lassen und die Wertigkeit der einzelnen Symptomen nicht genau zu bestimmen ist.

2.4.4 Auswertung der Daten

Zur Erstellung der Dosis-Effekt-Kurven wurde der Prozentsatz der mit Ulzerationen reagierenden Tiere pro Dosis verwendet. Die statistische Auswertung in Form einer Probit-Analyse erfolgte mit dem entsprechenden SAS-Programm. Mit dieser Analyse werden - unter Berücksichtigung der Tierzahlen - sigmoide Kurven erstellt und die 95%-Wahrscheinlichkeitsbereiche für jede in der Kurve enthaltene Dosis errechnet.

Bei der quantitativen histologischen Auswertung wurde der Mittelwert aus allen Schnitten jedes Tieres berechnet. Mittels SAS erfolgte daraus die Berechnung von Gesamt-Mittelwert und SD bzw. SEM; zur Beurteilung von Signifikanzen wurde der T-Test durchgeführt.

2.4.5 Topische Applikation von Substanzen

2.4.5.1 Silbernitratlösung

Verwendet wurde selbst hergestellte Silbernitratlösung verschiedener Konzentrationen (siehe 2.5.3). Zur Applikation wurde bei den (anästhesierten) Tieren die Zunge maximal vorgelagert und am Zungengrund mit einer Arterienklemme vorsichtig fixiert, um eine Aspiration der Lösung zu verhindern. Mittels einer mit Ballon versehenen Pasteur-Pipette wurden einige Tropfen der Lösung so auf die Zunge aufgebracht, daß sich ein durchgehender Feuchtigkeitsfilm bildete. Nach einer vorgegebenen Wirkzeit wurde der adstringierende Prozeß durch Aufbringen von Kochsalzlösung (10%) aus einer Einzelspritze unterbrochen. Hierdurch bildete sich ein weißer Niederschlag aus AgCl. Nach Beendigung der Behandlung wurde die Zunge in die Maulhöhle zurückverlagert.

2.4.5.2 Essigsäure

Es wurde Essigsäure verschiedener Konzentrationen verwendet. Die Applikation erfolgte analog zu 2.4.5.1. Um den Prozeß zu unterbrechen, wurde zum einen 1 NaOH (1 mmol/l) aufgebracht, zum anderen die Zunge mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült.

2.4.5.3 Wasserstoffperoxid

Verwendet wurde H_2O_2 in variabler Konzentration. Mittels Watte-Tupfer wurde ein dünner Film auf die Zungenunterseite aufgetragen. Da eine Unterbrechung der Wirkung nicht nötig war, genügte es, die Zunge nach Abklingen des sauerstoffabspaltenden Prozesses zurückzulagern.

2.4.6 Zellkinetische Untersuchungen

2.4.6.1 Stathmokinetiche Untersuchungen

Die Methode der Metaphasen-Arretierung beruht darauf, daß bestimmte - am Spindelapparat der Zellen angreifende - Substanzen alle während einer bestimmten Sammelzeit in die Metaphase eintretenden Zellen in dieser Teilungsphase blockieren. Somit sind alle während einer bestimmten Zeit auftretenden Mitosen der histologischen Auswertung zugänglich (35).

Als Metaphasenblocker wurde Vinblastin-Sulfat¹⁾ (VLB), 10%, in physiologischer Kochsalzlösung verwendet. Die Applikation erfolgte intraperitoneal. Die Dosierung betrug in Versuch K1-1 1 l bzw. 2 mg/kg, in allen weiteren Versuchen 2 mg/kg KGW. Die Sammelperiode war in Versuch K1-1 variabel, in allen weiteren Versuchen 4 Stunden.

1) Velbe ®, Lilly, 6380 Bad Homburg.

2.4.6.2 Kombinierte Markierungs- und stathmokinetiche Experimente

Zur Markierung von Zellen in S-Phase wurde ^3H -TdR intraperitoneal appliziert. Die Konzentration betrug $100 \mu\text{Ci/ml}$ ($3,7 \cdot 10^5 \text{ kBq/ml}$), die Dosis $1 \mu\text{Ci/g KGW}$. Um die Anzahl histologisch auswertbarer markierter Metaphasezellen zu erhöhen, wurde die stathmokinetiche Technik gemäß 2.4.6.1 angewandt.

2.4.7 Histologische Präparation und Vorgehen zur histologischen Auswertung

Die Zungen wurden - nach dem Abtöten der Tiere - am Ansatzpunkt ihres beweglichen Anteils entnommen. Die Fixierung zur histologischen Präparation erfolgte in Formalin-Alkohol.

Bei den Versuchen Ia, KI und SI erfolgte die Einbettung in Paraffin, bei allen anderen in Methylmethakrylat.

Die Dicke der angefertigten Schnitte betrug $5 \mu\text{m}$ (Paraffin) bzw. $3 \mu\text{m}$ (Methylmethakrylat).

Sofern Querschnitte der Zunge angefertigt wurden (s. 2.5.2.1), betrugen die Schnittabstände $500 \mu\text{m}$.

Bei Längsschnitten wurde - nach medianer Zerteilung der Zungen - das in Abb. 7 dargestellte Schnittschema angewandt.

Die Abstände zwischen benachbarten Schnittebenen betrugen jeweils $200 \mu\text{m}$.

Sofern zellkinetische Untersuchungen vorgenommen wurden, erfolgte die Auswertung bei 40facher Vergrößerung. Gewertet wurde die Anzahl an Metaphase-/Mitosezellen je Längeneinheit Epitheloberfläche. Begonnen wurde mit der Wertung apikal, ab dem Umschlagpunkt von papillenbildendem zu flachem Epithel (siehe Abb. 9).

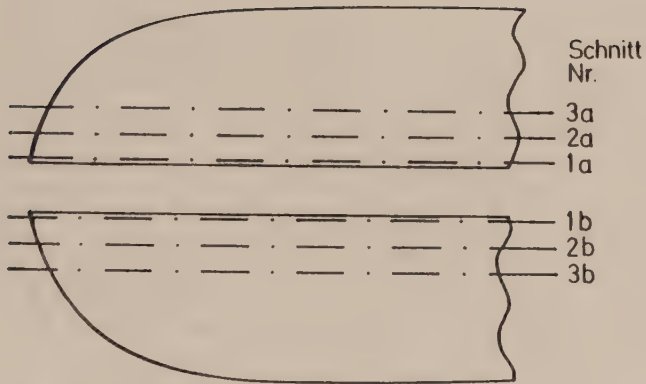


Abb. 7: Schnittschema zur histologischen Beurteilung des Zungenepithels

2.5 Durchgeführte Experimente

2.5.1 Übersicht

2.5.1.1 Bestrahlungsversuche

Ver- such Nr.	Ziel des Versuchs	Narkose zur Bestrahlung	Röhren- spannung kV	Tier- zahl
1	Strahlenreaktion nach Einzeldosen (SD)	Enfluran/ O ₂	29	35
1a	Histologische Ver- änderungen nach SD	Enfluran/ O ₂	29	10
2	Strahlenreaktion nach SD	Hexo- barbital	29	38

Ver- such Nr.	Ziel des Versuchs	Narkose zur Bestrahlung	Röhren- spannung kV	Tier- zahl
3	Hypoxiegrad bei lokaler Bestrah- lung	Hexo- barbital	29	35
4	Strahlenreaktion nach SD	Hexo- barbital	25	50
5	Einfluß der Frak- tionierung auf die Strahlenreaktion	keine/Hexo- barbital ¹⁾	300/ 25 ¹⁾	160
6	Regeneration unter konventioneller Bestrahlung mit 5x2,5 Gy/Wo, 1.-3. Wo	Hexo- barbital	300/ 25 ¹⁾	240
7	Regeneration unter konventioneller Bestrahlung mit 5x2,5 Gy/Wo, 1.-3. Wo	keine/Hexo- barbital ¹⁾	300/ 25 ¹⁾	240

1) d.h. Schnauzenbestrahlung/lokale Bestrahlung

Ver- such Nr.	Ziel des Versuchs	Narkose zur Bestrahlung	Röhren- spannung kV	Tier- zahl
8	Regeneration unter konventioneller Bestrahlung mit 5x3,5 Gy/Wo, 1.-2. Wo	keine/Hexo- barbital ¹⁾	300/ 25 ¹⁾	160
9	Einfluß der Vorbe- handlung mit AgNO ₃ auf die Reaktion nach Einzeldosen	Hexo- barbital	25	48
10	Einfluß der Vorbe- handlung auf die Regeneration	Hexo- barbital	300/ 25 ¹⁾	202
11	Strahlenreaktion der Rattenzunge auf SD	Ketamin	25	4

1) d.h. Schnauzenbestrahlung/lokale Bestrahlung

2.5.1.2 Untersuchungen zur Proliferationskinetik der Mukosa

Versuch Nr.	Ziel des Versuches	Tier- zahl
K1	Feststellung von geeigneter VLB-Dosis und Sammelintervall	36
K2	Stathmokinetiche Definition des Tagesrhythmus der Zellteilungsrate	36
K3	Tagesrhythmus der Mitoserate ohne Metaphasenarretierung	12
K4	Bestimmung des Prozentsatzes mar- kierter Mitosen zu bestimmten Zei- ten nach dreimaliger Markierung	48
K4a	Prozentsatz markierter Mitosen nach einmaliger Markierung	21
K5	Einfluß der Narkose auf die Epithelproliferation	33

2.5.1.3 Zellkinetische Untersuchungen zur Stimulierbarkeit der Proliferation

Versuch Nr.	Ziel des Versuches	Tierzahl
S1	Untersuchung der Wirkung von Silbernitratlösung bei verschiedenen Applikationsschemata	112
S2	Untersuchung der Wirkung von Essigsäure	24
S3	Untersuchung der Wirkung von Wasserstoffperoxid in verschiedenen Applikationsprotokollen	78

2.5.2 Beschreibung der einzelnen Versuche

2.5.2.1 Bestrahlungsversuche

In jedem Experiment wurden alle Dosisgruppen gleich stark mit Tieren besetzt. Somit ergab sich eine Durchschnittszahl von 8 Tieren je Dosis, die Mindestanzahl war 7.

Die Versuche 1, 2 und 4 dienten der Bestimmung der Strahlenreaktion nach Einzeitbestrahlung unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Röhrenspannung, Narkose). Bei Versuch 2 erfolgte zusätzlich eine tägliche Gewichtskontrolle.

In Versuch 1a wurden die histologischen Veränderungen nach lokaler Bestrahlung mit Einzeldosen untersucht. Ab Tag 8 nach der Bestrahlung wurden täglich jeweils 2 Tiere getötet und die Zungen zur Einbettung in Paraffin entnommen. Es wurden vom einen Tier Längs-, vom anderen Querschnitte der Zunge angefertigt.

Versuch 3 diente der Bestimmung der Reaktion auf Einzeitbestrahlung nach Applikation von Misonidazol. Die intraperitoneale Applikation erfolgte 15 min vor der Bestrahlung. Die Dosis betrug 1 mg/kg KGW der 3%igen Lösung in physiologischer Kochsalzlösung.

Mittels Versuch 5 wurde der Einfluß der Dosisfraktionierung auf die Strahlenreaktion untersucht. Hierzu wurden die Tiere extern mit variablen Dosen in verschiedenen Fraktionierungsprotokollen bestrahlt, gefolgt von einer lokalen 'Top-up'-Bestrahlung mit einer konstanten Dosis (5 Gy). Folgende Versuchsgruppen wurden gebildet:

1. Gruppe 5-1: 1 F
2. Gruppe 5-2: 3 F/1,5 d
3. Gruppe 5-3: 5 F/2,5 d
4. Gruppe 5-4: 10 F/2,5 d

Die Intervalle zwischen den einzelnen Fraktionen bzw. zwischen der letzten Fraktion und der lokalen Bestrahlung betrugen bei 1, 3 und 5 Fraktionen mindestens 6 h, bei 10 Fraktionen mindestens 4 h.

Die Versuche 6 mit 8 dienten der Untersuchung der Repopulierungsleistung bei konventioneller Fraktionierung.

Folgendes Bestrahlungsprotokoll wurde verwendet:

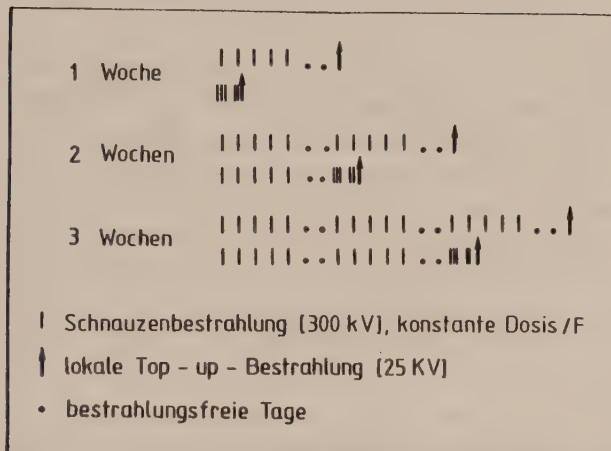


Abb. 8: Fraktionierungsschema zur Bestimmung der Regenerationsleistung des Zungenepithels

Die tägliche Schnauzenbestrahlung erfolgte jeweils zwischen 10.00 und 11.00 Uhr; bei mehrfacher Bestrahlung pro Tag mit mindestens vierstündigen Intervallen etwa um 08.00, 12.00 und 16.00 Uhr. Die lokale Strahlendosis wurde jeweils um 10.00 bis 11.00, bzw. um 15.30 bis 16.30 Uhr appliziert.

Die Versuchsreihen 6 und 7 bestanden aus jeweils 6 Einzelversuchen (6-1 bis 6-6 bzw. 7-1 bis 7-6). In beiden Versuchsreihen betrug die Dosis pro Fraktion 2,5 Gy; im Unterschied zu Versuch 6 wurde jedoch die externe Bestrahlung in Versuch 7 ohne Narkose durchgeführt.

Das Protokoll von Versuch 8 entspricht Abb. 8, jedoch tritt die volle Schädigung bereits nach 2 Wochen Bestrahlung auf. Deshalb ist eine Bestimmung der Repopulierungsleistung in der dritten Woche nicht möglich.

Die Versuche 9 und 10 wurden zur funktionellen Untersuchung der Wirkung der Silbernitrat-Behandlung durchgeführt.

In Versuch 9 wurde der Einfluß der Konditionierung mit AgNO_3 -Lösung auf die Strahlenreaktion nach Einzeldosen getestet. Die Vorbehandlung mit 3%iger Silbernitratlösung bei einminütiger Wirkzeit erfolgte an den Tagen 0, 1 und 2. Die Applikation der Strahlendosis fand an Tag 5 statt. Als Kontrolle dient Versuch 4.

Versuch 10 definiert den Einfluß der Vorbehandlung auf die Strahlenreaktion nach fraktionierter Strahlenbehandlung. Die tägliche Applikation der Silbernitratlösung (3%, Wirkzeit 1 min) erfolgte wiederum an den Tagen 0-2.

Die fraktionierte Bestrahlung (unter Narkose) begann an Tag 5, die lokale Bestrahlung erfolgte an Tag 12. Folgende Bestrahlungsprotokolle wurden verwendet:

1. $5 \times 2,5$ Gy/Wo., tägliche Applikation (Versuch 10-1)
Als Kontrolle dient die entsprechende Gruppe aus Versuch 6.
2. $5 \times 3,5$ Gy/Wo., tägliche Applikation (Versuch 10-2)
Zur Kontrolle wurden 40 Tiere der gleichen Strahlenbehandlung, jedoch ohne vorherige Konditionierung, unterzogen.

3. $3 \times 5,2$ Gy/Wo., Bestrahlung an den Tagen 5, 7 und 9 (Versuch 10-3)

Als Kontrolle wurden 40 Tiere dem gleichen Fraktionierungsschema unterworfen.

In Versuch 11 sollte festgestellt werden, inwieweit die Strahlenreaktion der Rattenzunge nach lokaler Bestrahlung mit Einzeldosen sich von derjenigen der Maus unterscheidet.

Je 2 Tiere wurden mit (Tier-Nr. 1, 3) bzw. ohne (Nr. 2, 4) Abdeckung von Zungenspitze und -rändern bestrahlt. Appliziert wurden 18 Gy (Nr. 1, 2) und 21 Gy (Nr. 3, 4). Die tägliche Beurteilung der Strahlenantwort wurde begleitet von einer Kontrolle des Gewichtsverlaufes.

Den Tieren Nr. 3 und 4 wurden an Tag 11 die Zungen zur histologischen Untersuchung (Paraffin) entnommen.

2.5.2.2 Untersuchungen zur Proliferationskinetik

Der Bestimmung der geeigneten VLB-Dosis und des Sammelintervalls für die Metaphasen-Arretierung diente Versuch K1.

Je 9 Tieren wurde um 06.00 bzw. um 08.00 Uhr (MEZ) VLB in einer Dosierung von 1 bzw. 2 mg/kg KGW appliziert.

Nach 2, 4 und 6 Stunden wurden je 3 Tiere einer Dosisgruppe getötet und die Zungen zur histologischen Untersuchung (Paraffin) entnommen.

Zur stathmokineticischen Bestimmung der zirkadianen Proliferationsschwankungen wurde Versuch K2 durchgeführt. Verwendet wurden 36 Versuchstiere für 12 Injektionszeitpunkte. Beginnend um 16.00 Uhr wurde in zweistündigen Intervallen jeweils 3 Tieren VLB (2 mg/kg KGW) injiziert. Jeweils 4 h nach der Applikation wurden die Tiere getötet und die Zungen entnommen.

Der diurnale Mitoseverlauf ohne Anwendung der Metaphasen-Arrest-Methode wurde in Versuch K3 definiert. Je 2 Tiere wurden zwischen 08.00 und 16.00 Uhr (MESZ) in zweistündigen Intervallen euthanasiert und die Zungen entnommen.

Ziel des Versuches K4 war es, festzustellen, ob sich alle Zellen, die sich in einer Nacht in der DNA-Synthesephase befinden, sofort anschließend daran teilen, oder ob sie die Mitose erst an späteren Tagen durchlaufen. Eine weitere Fragestellung war, ob sich diese Kohorte von Zellen jeden Tag teilt oder ob sich an den folgenden Tagen jeweils andere Zellen aus der Germinativschicht teilen.

Aufgrund des diurnalen Proliferationsverlaufes befinden sich im ungestörten Epithel die Zellen zwischen 18.00 und 12.00 Uhr in der Synthesephase (57). Um alle Zellen in dieser Phase mit ^3H -TdR zu markieren, erfolgten 3 Injektionen, um 21.00, 02.00 und 07.00 Uhr. Ab 24.00 Uhr wurde - in vierstündigen Intervallen - je einer Versuchsgruppe VLB injiziert und die Zungen 4 h später entnommen. Die letzte Zungenentnahme erfolgte 67 h nach der ersten Markierung, also um 16.00 Uhr an Tag 3.

Als Ergänzung hierzu sollte in Versuch K4a der Teilungszeitpunkt von Zellen, die sich relativ früh bzw. relativ spät in der Nacht in S-Phase befinden, bestimmt werden.

Dieser Versuch wurde an 7 Gruppen zu je 3 Tieren durchgeführt. Die einmalige Markierung erfolgte um 21.00 (4 Gruppen) oder 02.00 Uhr (3 Gruppen).

VLB wurde - beginnend 2 h nach der Markierung - in vierstündigen Intervallen appliziert, die Sammelperiode betrug 4 h.

Versuch K5 untersucht den Einfluß der Hexobarbital-Narkosen (150 mg/kg KGW) auf die Höhe des Mitose-peaks der darauffolgenden Tage.

Die Zungenentnahme erfolgte bei Versuch K5-1 um 10.00 Uhr, wobei keine Metaphasenarretierung vorgenommen wurde. Bei den Versuchen K5-2 und K5-3 wurden die Tiere, nach VLB-Injektionen um 09.00 Uhr, um 13.00 Uhr getötet und die Zungen zur histologischen Untersuchung entnommen.

Folgendes Versuchsprotokoll wurde verwendet:

Versuch Nr.	Tageszeit der Narkosen	an Tag	Zungenentnahme an Tag
K5-1	10.00	0,1,2	1,2,3,4,5
K5-2	09.00,16.00	0	1,2,3
K5-3	08.00,12.00, 16.00	0	1,2,3

2.5.2.3 Zellkinetische Untersuchungen nach lokaler Applikation verschiedener Agenzien

In der Versuchsreihe S1 wurde die Wirkung von Silbernitrat-Lösung auf die Anzahl sich teilender Zellen zum Zeitpunkt der höchsten Mitoserate (08.00 bis 12.00 Uhr) untersucht.

In den Versuchen S1-1 und S1-2 wurde 3%ige AgNO_3 -Lösung verwendet, die Wirkzeit betrug 1 min.

Je 3 Tiere bildeten eine Versuchsgruppe. Zur Ermittlung der Proliferationsrate diente die Methode der Metaphasen-Arretierung.

Beide Versuche bestanden aus zwei Teilen: zum einen erfolgte eine tägliche Applikation an den Tagen 0-4 (S1-1) bzw 0-5 (S1-2) mit Zungenentnahme an den Tagen 1-5 bzw. 4-6, im zweiten Teil erfolgte die Behandlung nur an den Tagen 0-2. Hier wurden die Zungen an den Tagen 1-5 (S1-1) bzw. 4-6 und 8 (S1-2) um 12.00 Uhr entnommen. Bei Versuch S1-2 erfolgte parallel dazu die Zungenentnahme um 22.00 Uhr an den Tagen 5-7, um die Wirkung des Silbernitrats auf den Mitoseverlauf zu einem Zeitpunkt mit normalerweise sehr geringer Teilungsaktivität zu bestimmen.

Versuch S1-3 diente der Untersuchung der Wirkung variabler Konzentrationen der Silbernitrat-Lösung. Die Behandlung erfolgte täglich (Wirkzeit 1 min); die Zungenentnahme wurde um 10.00 Uhr vorgenommen.

Folgende Versuchsprotokolle wurden angewandt:

Konz. der Lösung %	Behandlungs- tage	Zungenentnahme an den Tagen
0 ¹⁾	0,1,2	1,2,3,5
5	0,1,2	1,2,3,5 ²⁾
10	0,1,2	1,2,3 ²⁾ ,5
15	0,1	1,2,3,5
20	0,1	1,2,3,4

1) verwendet wurde physiologische Kochsalzlösung

2) 1 Tier infolge Aspiration gestorben

Die Wirkung von Essigsäure wurde in der Versuchsreihe S2 untersucht.

Jeweils 2 Tiere bildeten eine Versuchsgruppe.

Die Unterbrechung der Wirkung erfolgte bei jeweils einem Tier jeder Gruppe durch Abspülen der Zunge mit physiologischer Kochsalzlösung, bei dem zweiten Tier durch Aufbringen von NaOH (1 mmol/l).

Verwendet wurde Essigsäure in den Konzentrationen 1, 2 und 5 %; die Wirkzeit betrug 1 min. Behandelt wurde täglich an den Tagen 0 bis 2, die Zungenentnahmen erfolgten an den Tagen 1, 2, 3 und 5 jeweils um 10.00 Uhr.

Zur Untersuchung der Wirkung von Wasserstoffperoxid wurde die Versuchsreihe S3 durchgeführt.

In Versuch S3-1 wurde H_2O_2 in 30%iger Konzentration verwendet. Die tägliche Behandlung erfolgte an 18 Tieren in 9 Gruppen nach folgendem Schema:

Behandlung an den Tagen	Zungenentnahme (10.00 Uhr) an den Tagen
0, 1, 2	1, 2, 3, 5
0, 1	1, 2, 4
0	1, 4

Zusätzlich wurden einer Kontrollgruppe (3 Tiere) an Tag 0 die Zungen um 10.00 Uhr entnommen.

In Versuch S3-2 erfolgte eine tägliche Behandlung mit 20%igem H_2O_2 .

Verwendet wurden 3 Tiere je Versuchsgruppe. Vor der Zungenentnahme um 13.00 Uhr erfolgte jeweils eine VLB-Applikation um 09.00 Uhr.

Im ersten Teil dieses Versuchs erfolgte eine Behandlung an den Tagen 0 und 1 mit folgender Zungenentnahme an den Tagen 3, 4 und 5. Der zweite Teil bestand aus 3 Behandlungen (Tag 0 bis 2) mit Abtötung an den Tagen 4, 5, 6 und 7.

In Versuch S3-3 wurde ebenfalls 20%iges Wasserstoffperoxid verwendet; allerdings erfolgte hier die Behandlung mehrmals täglich.

Wiederum bildeten 3 Tiere eine Versuchsgruppe und es wurde ebenfalls die Metaphasen-Arretierung angewandt. Der Versuch wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:

Behandlungen pro Tag	Behandlungstag(e)	Abtötung an den Tagen
2	0	2, 3, 4, 5
2	0, 1	3, 4
3	0	2, 3, 4, 5

Bei Versuch S3-4 wurde H_2O_2 in 20%iger Konzentration täglich appliziert. Ziel des Versuches war es, festzustellen, welchen Verlauf der zirkadiane Proliferationsrhythmus nach der Stimulation zeigt. Behandelt wurden 3 Versuchsgruppen (je 3 Tiere) an den Tagen 0 und 1. An Tag 4 erfolgte bei je 1 Gruppe die VLB-Injektion um 08.00, 12.00 bzw. um 16.00 Uhr. Die Zungenentnahme wurde nach einer vierstündigen Metaphasen-Sammelperiode vorgenommen.

3. ERGEBNISSE

3.1 Anatomie und Histologie der Zunge bzw. des Zungenepithels

Die Zunge füllt bei geschlossenem Kiefer das Cavum oris proprium vollständig aus.

Bei der Maus betragen ihre Länge ca. 1 cm, die Breite ca. 5 mm und die Höhe ca. 1 mm. Es ist möglich, sie bis zu 7 mm aus der Maulhöhle vorzulagern.

Sie besteht aus der quergestreiften Zungenmuskulatur, Bindegewebe, Fettgewebe, Zungendrüsen und der Schleimhaut mit teilweise sehr auffälligem Oberflächenrelief. Gestützt wird sie vom Zungenbein.

Der anatomischen Lagebeschreibung dient folgende Nomenklatur: dorsum linguae (Zungenrücken), apex linguae (Zungenspitze), corpus linguae (Zungenkörper), radix linguae (Zungengrund), frenulum linguae (Zungenbändchen, eine mediane Schleimhautfalte, die die Zungenunterseite proximal mit dem Mundhöhlenboden verbindet) und sulcus medianus linguae (mediane Einziehung).

Die Schleimhaut der Zunge geht im Zungengrund ohne Abgrenzung in die Mundhöhlenschleimhaut über. Sie besitzt eine sehr straffe Submukosa. An speziellen Einrichtungen trägt die Zungenschleimhaut Papillen. Dies sind zum einen Geschmackspapillen (papillae gustatoriae), zum anderen mechanisch wirksame Papillen (papillae mechanicae, hier v.a. papillae filiformes).

Letztere finden sich auf der Zungenoberseite und sind rachenwärts gerichtet. Allerdings geht dieses papillenbildende Epithel an den Zungenrändern und auch apikal (ca. 1 mm) auf die Zungenunterseite über. Die eigentliche Zungenunterseite besitzt keine Papillen (Abb. 9).

Das Epithel der Mundhöhle stellt ein Deckepithel (ektodermalem Ursprungs) dar, welches einer Basalmembran aufsitzt und gefäßfrei ist.

Die Mukosa der Zungenunterseite besitzt histologisch ein mehrschichtiges Plattenepithel mit folgenden Schichten:

Str. germinativum	[Str. basale	Str. profundum
	Str. spinosum	
	Str. granulosum	
	Str. lucidum	Str. superficiale
	Str. corneum	

Das Stratum basale, die Basalzellschicht, besteht aus zylindrischen Zellen mit längsovalen Kernen in ein bis zwei Schichten. In der Stachelzellschicht (Str. spinosum) stellen sich die Kerne abgerundet dar.

Basal- und Stachelzellschicht bilden das Stratum germinativum, die Schicht in der alle Zellteilungen stattfinden.

Im Str. granulosum finden sich in den Zelleibern Keratohyalin-Granula. Diese Substanz wird in der nächsten Schicht in Eleidin umgewandelt. Hier stellen sich die Kerne platt dar.

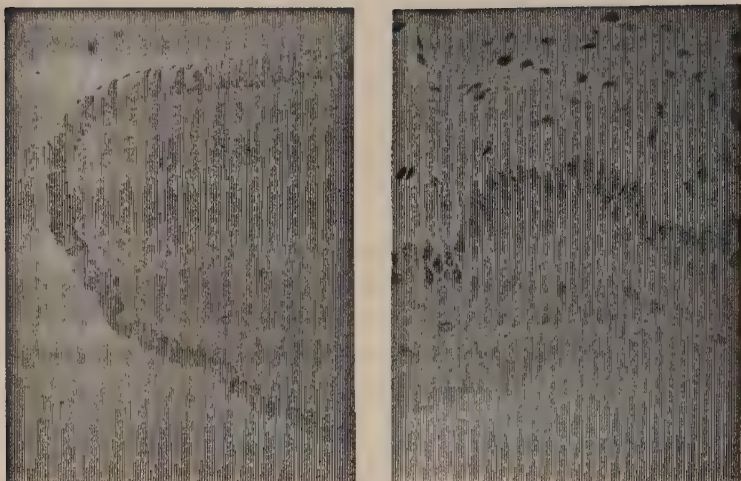


Abb. 9: Histologische Struktur des Zungenepithels
Das linke Bild zeigt in 105facher Vergrößerung eine Übersicht mit dem Übergang von papillenbildendem zu flachem Epithel, das rechte Bild (420x) zeigt die Schichten des Epithels.

Im Stratum corneum, der Hornschicht, sind keine Kerne mehr zu identifizieren, das Eleidin wurde in Keratin umgewandelt. Diese Schicht erleidet durch mechanische Abschilferung einen ständigen Substanzverlust, der durch Nachschub aus den tieferen Schichten ausgeglichen werden muß.

Die Gesamtdicke des Epithels der Zungenunterseite beträgt - abhängig vom Kontraktionszustand der Muskulatur - ca. 80-120 μm . Die Gesamt-Zellzahl in diesem Gewebe ist relativ konstant und beträgt ca. 307 je mm Epithellänge.

3.2 Proliferationskinetik des Epithels der Zungenunterseite

3.2.1 Methode der Metaphasen-Arretierung: VLB-Dosis und Sammelintervall

Die orale Schleimhaut, v.a. die des Nagers, zeigt einen deutlich ausgeprägten diurnalen Rhythmus ihrer proliferativen Aktivität (13, 14, 34, 40, 56, 57).

Die Technik der Metaphasen-Arretierung beruht darauf, daß sog. Spindelgifte alle in einem bestimmten Sammelintervall in die Metaphase eintretenden Zellen in dieser Phase blockieren und so der histologischen Auswertung zugänglich machen.

Da die Pharmakodynamik der metaphasenarretierenden Agenzien für verschiedene Gewebe und die Reaktion dieser Gewebe auf die Substanzen verschieden sind, müssen sowohl die Dosis als auch das optimale Sammelintervall gesondert bestimmt werden (72, 90, 91). Abb. 10 zeigt das Ergebnis der Metaphasenzählung für verschiedene Sammelperioden bei VLB-Dosierungen von 1 mg/kg KGW (A) und 2 mg/kg KGW (B).

Ist die Dosierung zu niedrig, so tritt der sog. Anaphasen-Escape auf, d.h. einige sich teilende Zellen werden von VLB nicht in ausreichender Konzentration erreicht und vollenden die Mitose. Dies führt zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Werte. Bei 1 mg/kg KGW zeigt sich eine Anaphasenzahl von 1-2/mm Epithellänge.

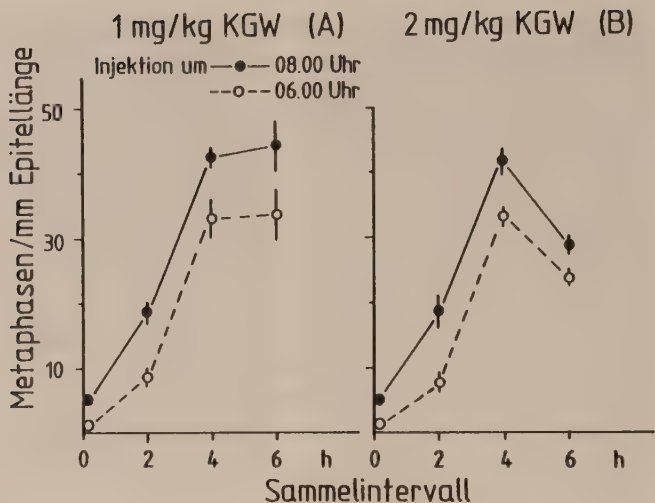


Abb. 10: Metaphasenwerte ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) in Abhängigkeit von VLB-Dosis und Sammelintervall

Die Sammelzeit muß bestimmt werden, da zum einen das Agens eine bestimmte Zeit benötigt, um in ausreichender Konzentration am Zielort anzufluten (ansteigende Kurventeile in Abb. 10), zum anderen arretierte Metaphasen sehr schnell degenerieren und so der histologischen Auswertung nicht mehr zugänglich sind. Diesen Vorgang stellen die fallenden bzw. horizontalen Kurventeile in Abb. 10 dar.

Sowohl eine zu kurze, als auch eine zu lange Sammelperiode würden also zu einer Unterschätzung der Realwerte führen.

Für das Epithel der Zungenunterseite der Maus erweist sich die VLB-Dosis von 2 mg/kg KGW bei einer Sammelzeit von 4 h als geeignet, um Fehleinschätzungen zu vermeiden.

3.2.2 Diurnale Rhythmik der Epithelproliferation

Die Mitoseaktivität des Epithels weist eine charakteristische Fluktuation während des Tagesverlaufes auf (Abb. 11). Sie steigt ab 07.00 Uhr an, erreicht ein Maximum zwischen 09.00 und 10.00 Uhr und sinkt dann bis 17.00 wieder auf sehr geringe Werte zurück.

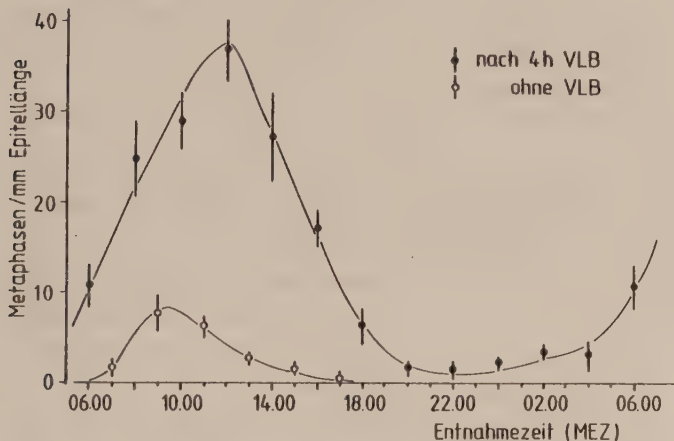


Abb. 11: Metaphasenhäufigkeit im Zungenepithel (Unterseite) über den Tagesverlauf ($\bar{x} \pm SD$)

Bei Anwendung der stathmokineticischen Technik zur Bestimmung dieser Schwankungen ergibt sich ein Anstieg der Mitoserate ab 04.00 Uhr (3,25 Metaphasen/mm Epithellänge) bis zu einem Maximum von 37 Metaphasen je Epithel um 12.00 Uhr (Zungen-Entnahmezeit).

Darauf folgt ein Rückgang bis 20.00 Uhr, gefolgt von sehr geringen Werten während der Nachtphase.

Der zeitliche Unterschied der beiden Kurvenmaxima beruht darauf, daß durch VLB bei einer Entnahmezeit von 12.00 Uhr alle Mitosen zwischen 08.00 und 12.00 Uhr blockiert wurden, während die Auswertung ohne Metaphasenarretierung nur den Zustand zu einem bestimmten Zeitpunkt widerspiegelt. So ist, wenn das eigentliche Mitosemaximum um 10.00 Uhr ist, dies zwar bei einer Entnahme um 12.00 Uhr (nach VLB) erhalten, nicht jedoch um 10.00 Uhr.

3.2.3 Tägliche Proliferation und Turnover-Zeit

Addiert man alle in vierstündigen Abständen gemessenen Sammelwerte über 24 h, so ergibt sich daraus kumulativ die Anzahl aller Zellen, die sich während eines Tages teilen. Beginnt man diese Zählung mit der Zungenentnahme um 24.00 Uhr (geschlossene Symbole in Abb. 12) so ergeben sich 86 Metaphasen/mm Epithel, beginnt man um 02.00 Uhr (offene Symbole), sind es 80 Metaphasen/mm Epithel, die in 24 h auftreten.

Da die Zellzahl in 1 mm Epithellänge durchschnittlich 307 beträgt, errechnet sich nach Gleichung (1) die prozentuale Anzahl Z derjenigen Zellen, die an dieser täglichen Proliferation teilnimmt. Dies sind ca. 27%.

$$Z = \frac{\text{Metaphasen in 24 h} \times 100}{307} \quad (1)$$

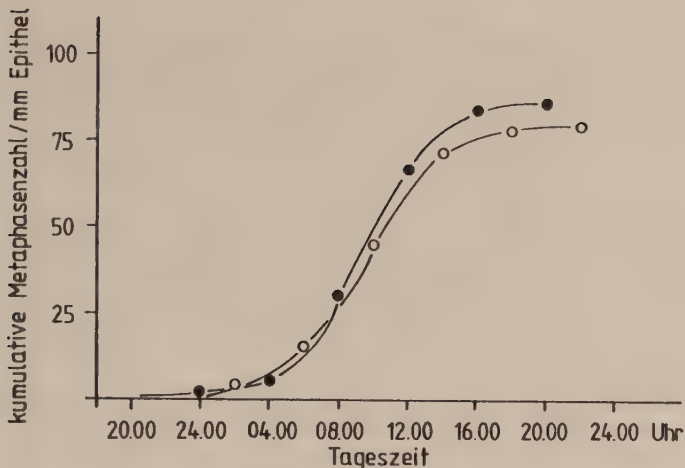


Abb. 12: Kumulative Metaphasenzählung
Dargestellt ist die Summe der Meßwerte in vierstündigen Abständen, beginnend um 02.00 (O) bzw. um 24.00 Uhr (●).

Aus diesem Wert ergibt sich nach Gleichung (2) die Turnover-Zeit (TT), d.h. die Zeit, in der sich alle ursprünglich vorhandenen Zellen einmal geteilt haben.

$$TT = \frac{100\%}{27\%} \quad (2)$$

Für das Epithel der Zungenunterseite ergibt sich eine TT von ca. 3,7 Tagen.

3.2.4 Zeitliche Beziehung zwischen S-Phase und Mitose

Auch die S-Phase-Aktivität unterliegt starken zirkadianen Schwankungen (57). Ab 18.00 Uhr beginnt sie zu steigen, erreicht ihr Maximum um 02.00 Uhr und sinkt dann bis 12.00 Uhr auf geringe Werte zurück. Deshalb genügt zur radioaktiven Markierung nahezu aller S-Phase-Zellen eines Tages die dreimalige Injektion von ^3H -TdR, beginnend um 21.00 Uhr, in fünfständigen Abständen.

Bei einer Dauer der Synthesephase von 4-6 h sind die Zellen, die um 18.00 Uhr die Synthese beginnen, um 21.00 Uhr noch in dieser Phase, während Zellen, die um 12.00 Uhr in die Synthesephase eintreten, noch durch die letzte Injektion um 07.00 Uhr erreicht werden.

Durch Kombination dieser Markierung mit der Methode der Metaphasen-Arretierung über eine vierstündige Sammelperiode sind die ursprünglich markierten Zellen, die sich teilen, als markierte Metaphasezellen sichtbar.

Abb. 13 zeigt das Ergebnis dieses Versuches.

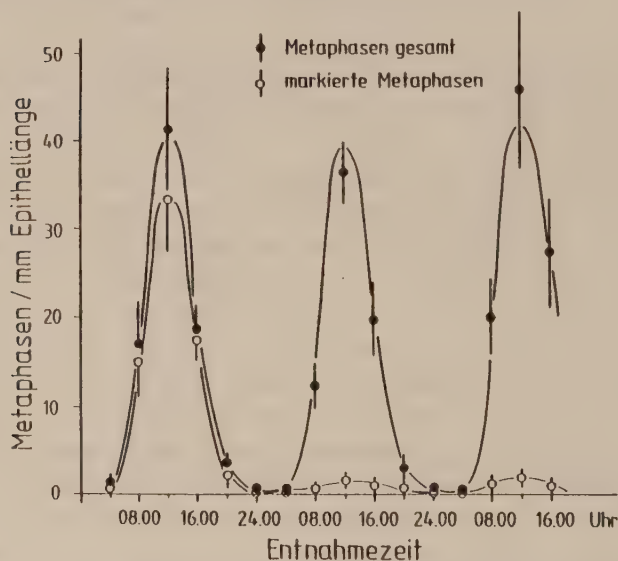


Abb. 13: Zeitlicher Verlauf der Zahl aller (●) und markierter (○) Metaphasen nach dreimaliger Markierung

Alle drei Wellen der mitotischen Aktivität entsprechen dem physiologischen Ablauf (siehe 3.2.2), so daß ein Einfluß des ^3H -TdR auf die Proliferation ausgeschlossen werden kann.

Bereits im ersten Mitosegipfel nach der Markierung beträgt der Prozentsatz markierter Metaphasen (PLM) 80-90%, um dann auf sehr niedrige Werte (ca. 0-5%) am zweiten und dritten Tag abzusinken.

Somit teilen sich die meisten Zellen direkt nach dem Durchlaufen der S- und G_2 -Phase, während sich an den beiden darauffolgenden Tagen nicht deren Tochterzellen, sondern jeweils andere Zellen der Basalschicht teilen. Dies läßt auf das Vorhandensein einer relativ langen G_1 -Phase der Zellen dieser Population schließen. Außerdem bedeutet es, daß alle Zellen der Basalschicht an der Proliferation teilnehmen.

Den Verlauf des PLM nach einmaliger Markierung mit ^3H -TdR sowohl am Beginn 21.00 Uhr) als auch im Maximum der Syntheseaktivität (02.00 Uhr), verglichen mit der Gesamtzahl der Metaphasen, zeigt Abb. 14.

Nach Markierung in der Frühphase tritt das PLM-Maximum nach 13 h auf, während nach der Markierung um 02.00 Uhr bereits nach 10 h der maximale PLM erreicht ist.

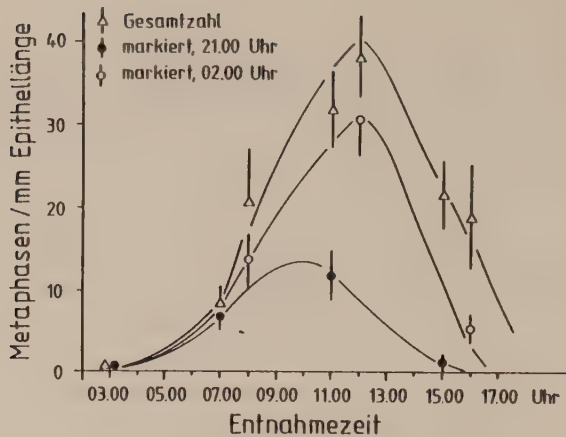


Abb. 14: Zahl markierter Metaphasen nach einmaliger Markierung um 21.00 (●) bzw. um 02.00 (○) Uhr verglichen mit der Gesamtzahl aller Metaphasen

Somit muß es sich bei diesen Zellen entweder um mehr Zellen in der späten S-Phase, oder aber um Zellen mit einem schnellerem Teilungsrythmus handeln als bei den um 21.00 Uhr markierten.

Außerdem ist zu sehen, daß - erwartungsgemäß - um 02.00 Uhr absolut mehr Zellen, verglichen mit 21.00 Uhr, markiert werden.

3.2.5 Einfluß von Hexobarbital-Narkosen auf die mitotische Aktivität

Bei den durchgeführten Experimenten zur Stimulierbarkeit der Proliferation haben sich Hinweise ergeben, daß in der Anfangsphase der Behandlung die Zellteilungsrate im Epithel sinkt.

Dies kann entweder durch die mechanische Irritation oder durch die Narkosen zur Applikation der verschiedenen Agenzien bedingt sein. Um dies zu klären, wurde der reine Einfluß von Hexobarbitalnarkosen auf die Proliferation im Epithel untersucht.

Werden die Anästhesien täglich (Tag 0-2) durchgeführt, so sinkt die Mitosezahl im Epithel um bis zu 30% an den Tagen 1-3 und erreicht an Tag 5 wieder ihren Normalwert. Bei mehrmals pro Tag verabreichten Narkosen (Tag 0) sinkt die Proliferationsrate an den beiden darauf folgenden Tagen ebenfalls um ca. 30%, erreicht aber ihren physiologischen Wert bereits an Tag 3 wieder. Abb. 15 stellt diese Schwankungen der Mitosezahl dar.

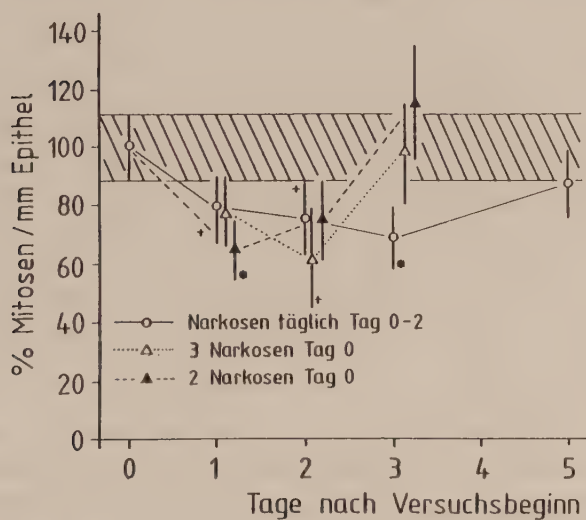


Abb. 15: Prozentuale Veränderungen der Mitoserate durch die Anästhesie
Dargestellt sind $\bar{x} \pm SD$ bei $n=3$, $p < 0,05$ (*) und $p < 0,1$ (+).

3.3 Strahlenreaktion des Epithels der Zungenunterseite

3.3.1 Halbwertstiefen und Dosisleistungen der (weichen) Röntgenstrahlen in Plexiglas

Die Eindringtiefe von Röntgenstrahlen, also ihre Schwächung im Gewebe, ist proportional zu ihrer Härte.

Da die Schwächung in Plexiglas ungefähr derjenigen in Weichgeweben entspricht, kann hieraus auf die Schwächung im Zungengewebe geschlossen werden.

Das Zielgewebe, nämlich die Germinativschicht des Epithels der Zungenunterseite, liegt nur ca. 80 μm unter der Oberfläche. Eine Strahlung in der Qualität von 20-30 kV ist an der Epitheleintrittsseite ausreichend homogen, wird aber beim Durchtritt durch die Zunge so stark geschwächt, daß eine Strahlenreaktion der Oberseite der Zunge, die belastend für die Versuchstiere wäre, vermieden wird.

Da während der Versuchsdurchführung ein Wechsel von der Siemens-Dermopan-Anlage an die Philips-Anlage PW 1130 nötig war, mußte über die Bestimmung der Halbwertstiefen verschiedener Strahlenqualitäten eine zur 29 kV-Strahlung adäquate Strahlung gefunden werden.

Abb. 16 zeigt die bei verschiedenen Plexiglasstärken noch vorhandene Dosisleistung in Prozent der Ausgangs-Dosisleistung. Zeichnerisch ergibt sich hieraus die Halbwertschicht (HWS) der jeweiligen Strahlung durch Ablesen der Abdeckung (auf dem Strahleneintrittsfenster der Ionisationskammer) bei 50% Dosisreduktion.

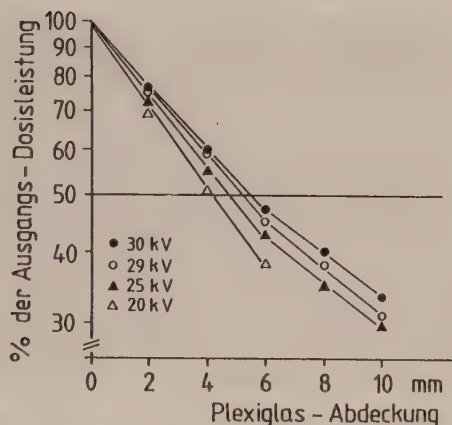


Abb. 16: Bestimmung der HWS für verschiedene Strahlungen
Die Werte für 29 kV wurde an der Siemens-, die anderen an der Philips-Anlage gemessen.

Folgende Werte wurden ermittelt:

Röhrenspannung kV	Röhrenstrom mA	HWS mm	Dosisleistung Gy/min
30	20	5,7	13,11
25	20	4,9	9,53
25	15	4,9	7,14
25	10	4,9	4,79
20	20	4,2	5,48
29 ¹⁾	20	5,4	4,15

1) Siemens-Dermopan-Anlage

Die angegebenen Dosisleistungen wurden ohne Plexiglas-Abdeckung im Fokus-Objekt-Abstand gemessen. Während die Dosisleistung abhängig ist vom Röhrenstrom, ist die Halbwertstiefe der Strahlung abhängig von der Röhrenspannung. Um - gegenüber der Siemens-Anlage - eine weitere Schonung der Zungenoberseite zu erreichen, wurde ab Versuch 4 die lokale Bestrahlung mit einer Röhrenspannung von 25 kV durchgeführt.

3.3.2 Klinisches Bild der Strahlenreaktion

Nach lokaler Einzeitbestrahlung mit 29 kV und ausreichend hohen Dosen zur Auslösung einer akuten Schleimhautreaktion treten erste Symptome nach einer Latenzzeit von 5-9 Tagen auf. Diese bestehen aus diffuser Rötung und Schwellung der Zunge, die nicht auf das strahlenexponierte Feld beschränkt bleiben. Nach 1-2 Tagen gehen diese Veränderungen in eine verstärkte, z.T. parakeratotische Desquamation des bestrahlten Epithels über. Aus dieser entwickelt sich nach weiteren 2-3 Tagen die typische strahleninduzierte Glossitis ulcerosa circumscripta acuta (Abb. 17, Abb. 18). Diese besteht - nicht dosisabhängig - über 1-4 Tage. Die ulzerative Läsion ist überzogen von einer weißlich-schimmernden Pseudomembran (in den Abbildungen abgelöst).

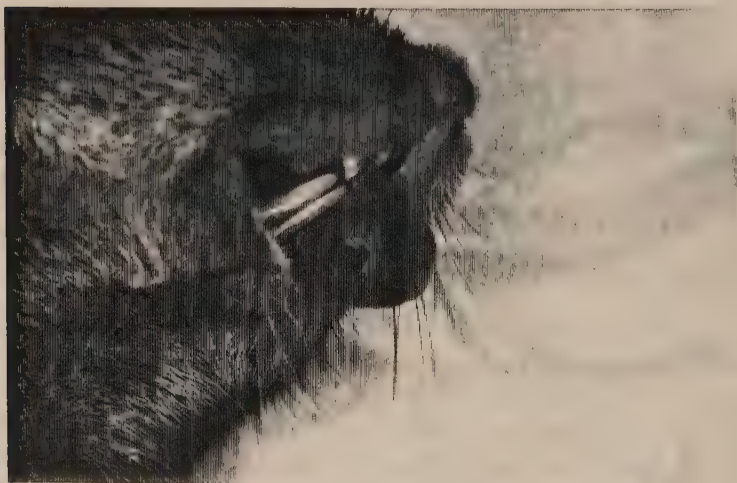


Abb. 17: Ulcerative Läsion nach Einzeitbestrahlung



Abb. 18: Strahleninduziertes Ulcus

Durch Reepithelialisierung erfolgt eine vollständige Ausheilung des Prozesses bis spätestens zum 16. Tag. Den zeitlichen Verlauf des Auftretens von Ulzerationen zeigt Abb. 19 für 4 Dosisgruppen.

Bei Bestrahlung mit niedrigeren Dosen kann die auftretende Reaktion aus jeder der geschilderten Phasen in die Heilung übergehen.

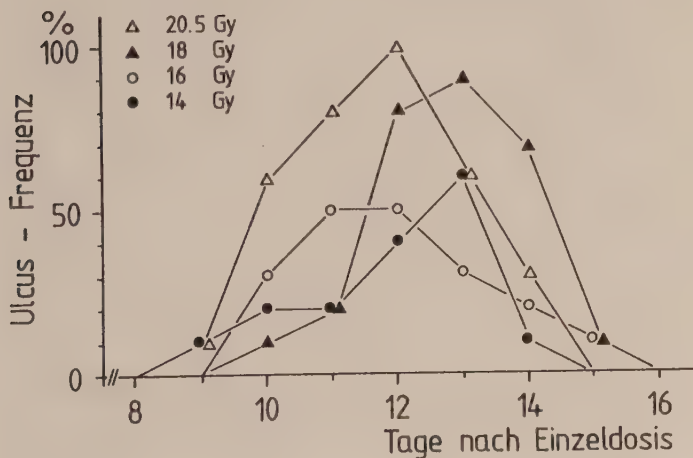


Abb. 19: Zeitlicher Verlauf der Strahlenreaktion

Die zur Beurteilung der Strahlenreaktion herangezogenen Kriterien waren Erythem und Ödem, Desquamation und ulzerative Läsion.

Die auftretenden ulzerativen Läsionen sind diejenigen Veränderungen, deren Dosisabhängigkeit am schärfsten ausgeprägt ist, und die am einfachsten zu beurteilen sind. Sie wurden deshalb als Endpunkt der Strahlenreaktion gewählt.

Um den Einfluß der (lokalen) Zungenbestrahlung auf die Nahrungsaufnahme der Tiere zu definieren, wurde der Gewichtsverlauf nach Einzeitbestrahlung verfolgt (Abb. 20). Es zeigt sich eine dosisunabhängige Gewichtsabnahme von -2 bis 3 % des Ausgangsgewichtes. Diese ist nicht signifikant von den physiologischen Gewichtsschwankungen verschieden.

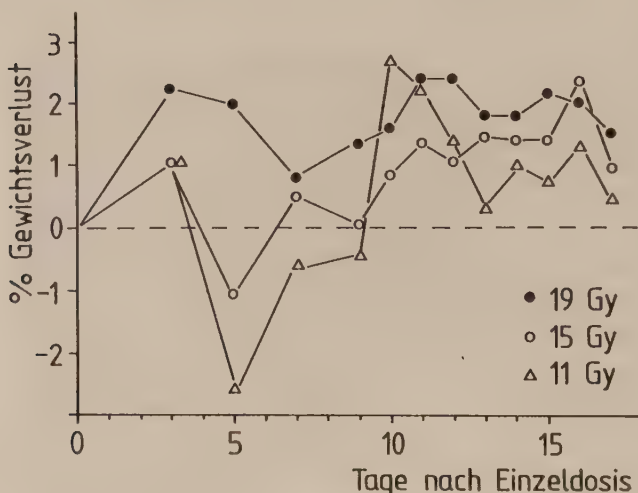


Abb. 20: Gewichtsverlauf nach Einzeldosen

3.3.3 Histologische Veränderungen nach Einzeitbestrahlung

Die histologische Verfolgung des Verlaufs der Strahlenschädigung wurde am Zungenepithel bereits durchgeführt (57). Allerdings erfolgte diese Untersuchung ohne Abdeckung von Zungenspitze und -rändern. Die Veränderungen traten zuerst an diesen Stellen auf und gingen von dort aus auf die Unterseite über. Die qualitativ gleichen Veränderungen traten ca. 2 Tage früher auf.

Die histologisch feststellbare Wirkung einer ausreichend effektiven Dosis (21 Gy = ED₉₅ für das Auftreten von Ulzerationen) wurde ab Tag 8 verfolgt. Bereits an Tag 8 ist die Zellzahl im Epithel stark verringert, wobei jedoch die Einzelzellen selbst vergrößert sind und deshalb die Epitheldicke nahezu unverändert ist. Die Kerne zeigen Karyopyknose und Karyorhexis; vereinzelt tritt auch Karyolysis auf. Ab Tag 9 beginnt die Auflösung der Basalzellschicht an einzelnen Stellen. Die Kernveränderungen nehmen an Zahl und Ausmaß zu.

Die vollständige Denudation und somit das Auftreten von Ulcerationen (Abb. 21) tritt an Tag 10-12 ein. Die Pseudomembran stellt sich als Fibrin, vermischt mit Resten des Epithels dar.

Unter diesem Schorf setzt schnell die Regeneration von den Rändern des Expositionsfeldes her ein, die über ein kurzes Stadium mit hyperplastischem Epithel zur vollständigen Ausheilung des akuten Schadens führt.

Bereits sehr früh (Tag 8) ist regelmäßig eine Hyperplasie in den nicht strahlenexponierten Feldrändern zu sehen.

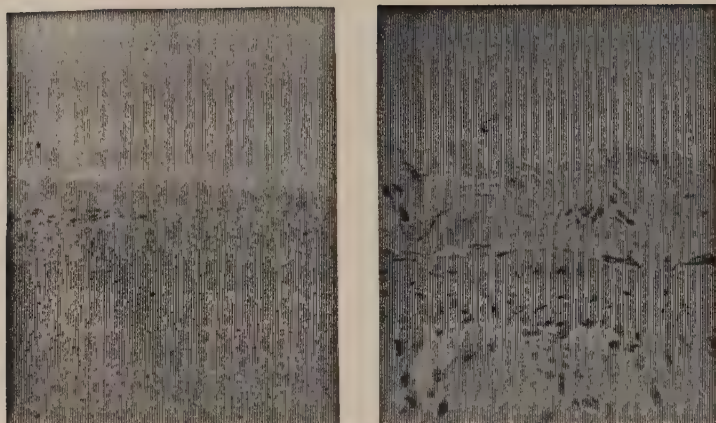


Abb. 21: Histologie der Strahlenreaktion an Tag 11 nach 21 Gy
Linkes Bild: Vergrößerung 260x; Es sind noch Reste des Epithels zu erkennen; der gesamte Defekt wird von einer Pseudomembran aus Fibrin, vermischt mit Horn, gedeckt.
Rechtes Bild: Vergrößerung 420x; In dieser Darstellung ist die vollständige Ausbildung eines Ulcus bis in die Submukosa zu erkennen.

3.3.4 Dosisabhängigkeit der Ulcusfrequenz nach Einzelbestrahlung mit 25 kV und 29 kV

Während der Durchführung der Versuche mußte ein Wechsel der Anlagen zur lokalen Zungenbestrahlung vorgenommen werden. Anfangs wurde eine Röhrenspannung von 29 kV (Siemens-Dermopan-Anlage), später von 25 kV (Philips PW 1130) verwendet.

Um neben der Bestimmung der Halbwertstiefen (s. 3.3.1) auch eventuelle Unterschiede in der biologischen Wirkung der Strahlungen festzustellen, wurden jeweils Einzelbestrahlungen durchgeführt. Die resultierenden Dosis-Effekt-Kurven (Abb. 22) sind nicht signifikant voneinander verschieden und auch der zeitliche Verlauf der Reaktionen bleibt unverändert.

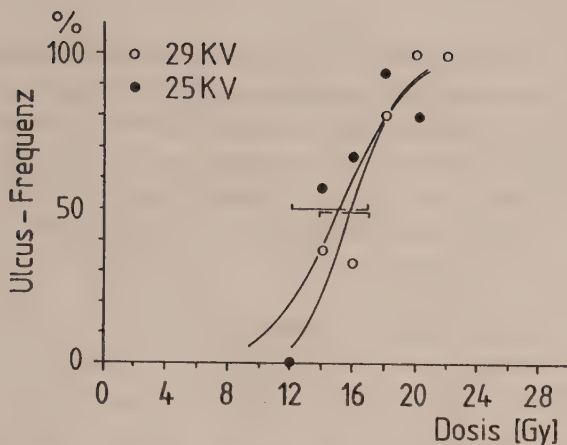


Abb. 22: Strahlenreaktion nach Einzeitbestrahlung mit 25 bzw. 29 kV Röntgenstrahlung

3.3.5 Einfluß der Narkoseart auf die Strahlenreaktion nach Einzeldosen

Unter Enfluran-O₂-Narkose tritt eine nicht signifikante Erhöhung der Strahlentoleranz gegenüber der Hexobarbital-Narkose auf (Abb. 23).

Der zeitliche Verlauf der Reaktion wird durch die Narkosearten nicht beeinflusst.

Da sowohl durch die Lagerung der Zunge zur Bestrahlung als auch durch die Anästhesie hypoxische Zustände im Epithel auftreten können, wurde dies durch die Anwendung von Misonidazol (RO-07.0582, 2-nitro-1-imidazolyl-3-methoxy-2-propanol) überprüft.

Misonidazol ist ein Stoff, der aufgrund seines Chemismus (O₂-Substitution durch Elektronen-Affinität) seine Wirkung nur entfaltet, wenn im entsprechenden Zielgewebe ein Mangel an Sauerstoff vorhanden ist (31).

Aus der unterschiedlichen Strahlenempfindlichkeit gegenüber Einzeldosen nach bzw. ohne Applikation von Misonidazol kann deshalb auf den Grad der Hypoxie im Zielgewebe geschlossen werden.

Die Applikation erfolgte 15 min vor der Bestrahlung, die Bestrahlung wurde unter Hexobarbital-Narkose vorgenommen.

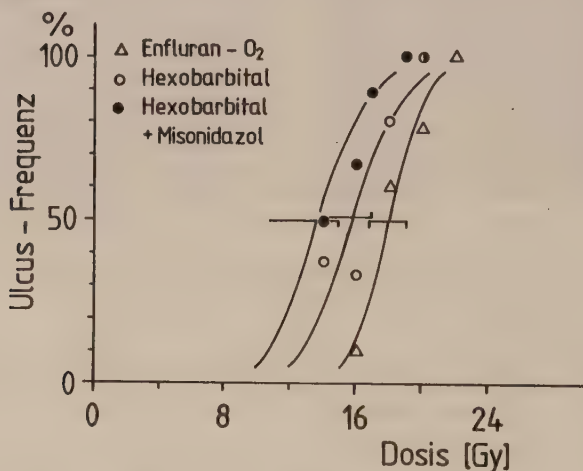


Abb. 23: Einfluß von Narkoseart und Hypoxie auf die Strahlenreaktion

Abb. 23 zeigt, daß die Strahlenreaktion nicht signifikant von der der Kontrollgruppe verschieden ist, allerdings ist der Einfluß einer geringgradigen Hypoxie auf die Strahlenwirkung nicht auszuschließen.

3.3.6 Einfluß der Dosis-Fraktionierung auf die Strahlenreaktion

Fraktionierungsstudien für die lokale Bestrahlung der Zunge wurden bereits durchgeführt (57).

Es hat sich gezeigt, daß es sich um ein typisches akut reagierendes Normalgewebe handelt, dessen Strahlenempfindlichkeit nur wenig von der Dosis-Fraktionierung abhängig ist.

In der hier vorliegenden Untersuchung wird die Fraktionierung durch externe Bestrahlung (300 kV) durchgeführt, um wiederholte mechanische Irritationen des Epithels zu vermeiden.

Die dadurch bedingte Resttoleranz des Epithels wurde dann durch eine lokale 'Top-up'-Bestrahlung bestimmt. Diese experimentelle Methodik wird auch von anderen Untersuchern angewandt (2, 42, 43).

Um zu definieren, welchen Einfluß diese Bestrahlungstechnik auf die Strahlenreaktion nach fraktionierter Bestrahlung hat, wurde Versuch 5 durchgeführt.

Um eine vollständige Reparatation des erholbaren Strahlenschadens zu gewährleisten und den Einfluß regenerativer Vorgänge auf die Strahlentoleranz auszuschließen, wurden zum einen die Bestrahlungsintervalle mit 6 bzw. 4 h angesetzt, zum anderen die Behandlungsdauer auf 3 d begrenzt.

Abb. 24 zeigt die Dosis-Effekt-Beziehungen für die angewandten Fraktionierungsprotokolle ohne Berücksichtigung der konstanten lokalen Top-up-Dosis. Es zeigt sich, daß mit zunehmender Aufteilung der Strahlendosis in kleinere Fraktionen die zum Erreichen eines bestimmten subklinischen Effektes nötige Gesamtdosis stetig ansteigt, d.h., daß die Strahlentoleranz mit zunehmender Dosis-Fraktionierung steigt. So beträgt die externe Gesamtdosis, nach der durch lokale Bestrahlung mit 5 Gy 50% der Tiere Ulzerationen entwickeln, für 1 externe Fraktion 10,8 Gy und für 10 externe Fraktionen 20,1 Gy.

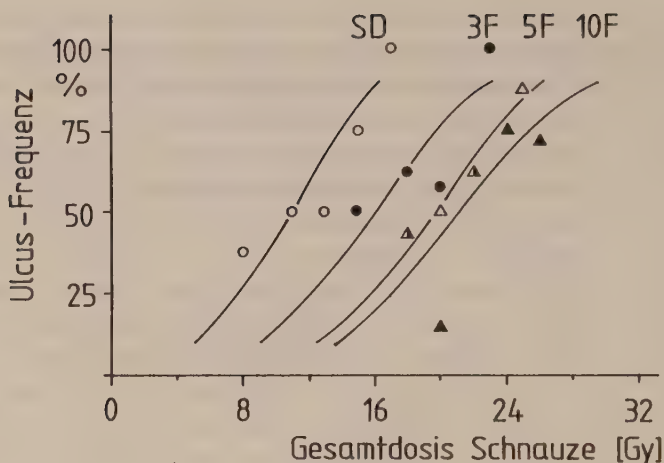


Abb. 24: Strahlenantwort nach fraktionierter Schnauzenbestrahlung

Einen Nebenbefund nach Schnauzenbestrahlung stellt folgendes klinisches Bild dar:

Nach externer Einzeitbestrahlung mit 14-15 Gy bzw. über 18 Gy tritt bei 50% bzw. 100% der Tiere ein übermäßiger seromuköser Speichelfluß ab Tag 6 nach der Bestrahlung ein.

Die Tiere zeigen ein gestörtes Allgemeinbefinden und magern stark ab, was bei einigen Tieren die Abtötung aus Tierschutz-Gründen erzwang. Die Umgebung der Mundspalte und der gesamte Kehl- und Brustbereich zeigen deutliche Sekretspuren mit verklebten Haaren, nach kurzer Zeit auch eine durch den Speichel bedingte Dermatitis mit Haarausfall. Es setzt eine sehr schnelle Erholung ein, die bis Tag 12 abgeschlossen ist. Das Körpergewicht normalisiert sich bis spätestens Tag 15.

Bei der adspektorischen und palpatorischen Untersuchung stellen sich die Speicheldrüsen unauffällig dar. Die Kopfhaut sowie die zu inspizierende orale Schleimhaut zeigen keinen besonderen Befund. Auch die pathologisch-anatomische Untersuchung von Kopf und Hals ergibt keine Besonderheiten.

Verfolgt man den klinischen Verlauf bei den nach diesen Protokollen bestrahlten Tieren weiter, so setzt nach ca. 2 Wochen die dosisabhängige strahleninduzierte Dermatitis ein, die sich nach ihrer Ausheilung in einer Depigmentierung der Haare äußert.

Am 40.-60. Tag nach der 1. Fraktion zeigt sich der Verlust eines oder beider Incissivi sowohl des Ober- als auch des Unterkiefers. Abhängig von der Anzahl ausgefallener Zähne ist die Futteraufnahme so stark beeinträchtigt, daß die Euthanasie der Tiere nötig ist. Diese Erscheinungen sind stark dosisabhängig, zeigen jedoch keinen Bezug zu den akut auftretenden Symptomen.

3.3.7 Repopulierungsleistung des Epithels bei konventioneller Fraktionierung

Zur Bestimmung der Regeneration, die durch tägliche Applikation kleiner Strahlendosen angeregt wird, dienen 'Top-up'-Experimente nach dem in Abb. 8 dargestellten Schema (konstante Dosis/Fraktion, variable Top-up-Dosis).

Die Unterschiede in den isoeffektiven Top-up-Dosen für die jeweils gleiche Fraktionszahl entsprechen dem Ausmaß der Repopulierung in der untersuchten Woche.

Da die Regenerationsleistung abhängig ist von der täglichen Zelldepletion, d.h. von der jeweils applizierten täglichen Dosis, wurden sowohl Versuchsreihen mit 2,5 Gy/F als auch mit 3,5 Gy/F durchgeführt. Abb. 25 zeigt das Ergebnis des Fraktionierungsversuches mit 2,5 Gy/F unter Hexobarbital-Narkose. Die Differenz der Top-up-Dosen steigt von 1,2 Gy in der ersten auf 1,7 Gy in der zweiten Woche. In der dritten Woche ist keine Steigerung des Regenerationseffektes mehr zu beobachten. Jedoch ist anzumerken, daß die 95%-Wahrscheinlichkeitsbereiche der jeweiligen Kurvenpaare sich stark überschneiden, die Kurven also nicht signifikant verschieden sind.

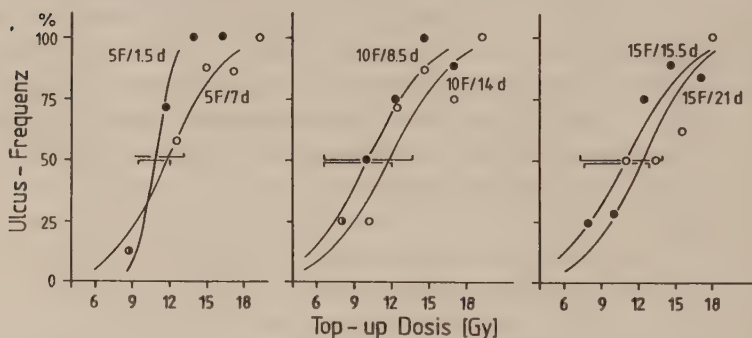


Abb. 25: Repopulierung bei 5 x 2,5 Gy/Woche unter Hexobarbital-Narkose

Es findet also nur ein geringer Anstieg der Repopulierung statt. Da aber die Dosis-Effekt-Kurven nach täglicher Bestrahlung über eine bis drei Wochen nahezu identisch sind ($ED_{50} = 12, 11,7$ bzw. 12 Gy), muß davon ausgegangen werden, daß die in der zweiten, bzw. zweiten und dritten Woche eingestrahlte Dosis ausgeglichen wird.

Wird dieser Versuch (2,5 Gy/F) ohne Narkose zur Schnauzenbestrahlung durchgeführt, so ergeben sich die in Abb. 26 dargestellten Dosis-Effekt-Kurven.

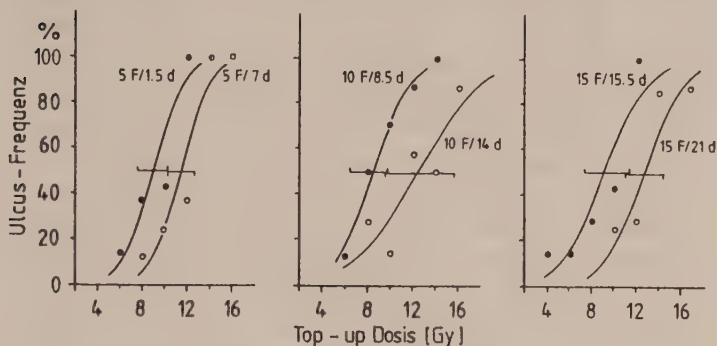


Abb. 26: Repopulierung bei 5 x 2,5 Gy/Woche ohne Narkose

Die zusätzlich benötigte Top-up-Dosis steigt von 2,4 Gy in der ersten auf 3,9 Gy in der zweiten Woche, um in der dritten Woche auf diesem Niveau (3,6 Gy) zu bleiben. Die Kurven der jeweiligen Woche sind deutlicher voneinander verschieden.

Der Anstieg der Repopulationsleistung zeigt sich auch, wenn man die Isoeffektiv-Dosen nach täglicher Bestrahlung vergleicht. Die ED_{50} steigt von 11,4 Gy in der ersten auf 12,3 Gy in der zweiten Woche und erreicht in der dritten Woche 12,6 Gy, was bedeutet, dass die Strahlentoleranz des Gewebes stetig steigt.

Erhöht man die Dosis/Fraktion auf 3,5 Gy, so wird die Repopulierung - bedingt durch den höheren Schädigungsgrad pro Fraktion - stärker angeregt (Abb. 27). Während der Unterschied in der lokalen Dosis in der ersten Woche 1,7 Gy beträgt, werden in der zweiten Woche 7 Gy mehr benötigt, um den gleichen Effekt zu erreichen.

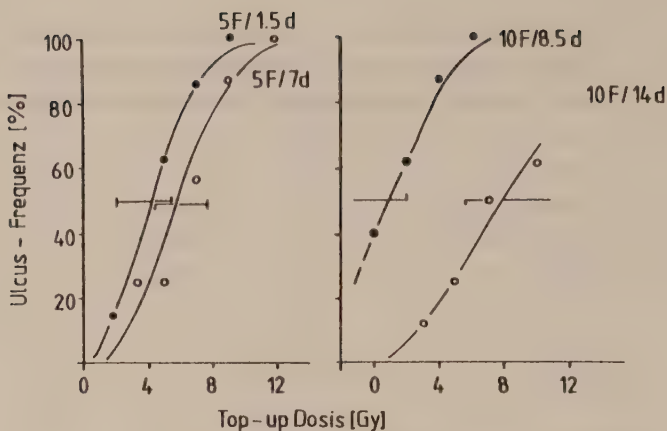


Abb. 27: Repopulierung während 5 x 3,5 Gy/Woche

Somit hat sich gezeigt, daß das Epithel der Zungenunterseite der Maus eine hohe proliferative Reservekapazität beinhaltet.

Ziel weiterer Untersuchungen war es, diese Reserve durch lokale Maßnahmen bereits vor der Strahlenapplikation zu aktivieren und die Regeneration nicht erst durch kleine Strahlendosen anregen zu müssen.

3.4 Einfluß lokaler Maßnahmen auf die Proliferationsrate

3.4.1 Applikation von Silbernitrat-Lösung

Silbernitrat wird in der Klinik als Adstringens verwendet. Weiter dient es zur Behandlung der Conjunctivitis follicularis des Hundes (Überführen der chronischen in die akute Entzündungsform).

Bei lokaler Applikation auf das Zungenepithel unter Verwendung geringer Konzentrationen (3%) wirkt die Lösung durch das Abtragen oberer Schichten des Stratum corneum proliferationsanregend.

Das Vordringen des Prozesses in tiefere Gewebsschichten wird verhindert durch die Entstehung eines Silber-Protein-Komplexfilmes. So sind auch histologisch keine Veränderungen in diesen Schichten festzustellen.

Im ersten Versuch wurde 3%ige Lösung für eine Minute appliziert. 4 h nach VLB-Injektion wurden die Tiere getötet, die Zungen fixiert und danach in Paraffin eingebettet. Abb. 28 zeigt das Ergebnis der histologischen Auswertung.

Nach einer narkose- und behandlungsbedingten Depression der Proliferation an den Tagen 1-3 beginnt die Mitoserate wieder anzusteigen. Wurden die Tiere täglich, also an Tag 0-4 behandelt, so steigt die Mitoserate um ca. 20% (Tag 4) über den Ausgangswert.

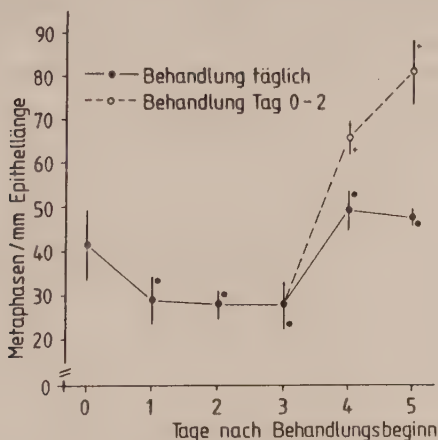


Abb. 28: Proliferationskinetische Veränderungen nach Silbernitrat-Applikation
Dargestellt ist $\bar{x} \pm SD$ (n=3). Die Unterschiede gegenüber dem Kontrollwert sind gekennzeichnet mit * ($p < 0.05$) und + ($p < 0.01$).

Behandelt man nur an den Tagen 0-2, so ist der Anstieg von Tag 3 auf 4 bedeutend stärker (43% über dem Kontrollwert). Die Metaphasenzahl an Tag 6 beträgt 81,5 pro mm; dies entspricht einer Steigerung von ca. 97% gegenüber dem Ausgangswert (41,5 Metaphasen/mm Epithellänge).

Um den weiteren Verlauf der Veränderung zu definieren und die Auswirkung auf den Tagesrhythmus beurteilen zu können, wurde der Versuch in abgewandelter Form wiederholt. Nach täglicher Behandlung wurde die Zungenentnahme an den Tagen 4-6, nach Applikation an Tag 0-2 an den Tagen 4-6 und 8 jeweils um 12.00 Uhr vorgenommen. Gleichzeitig erfolgte eine Zungenentnahme um 22.00 Uhr an Tag 5-7 nach dreimaliger Behandlung. Die Tage 1-3 wurden nicht berücksichtigt. Die Einbettung erfolgte in Methylnmethakrylat.

Abb. 29 zeigt das Ergebnis dieses Versuchs.

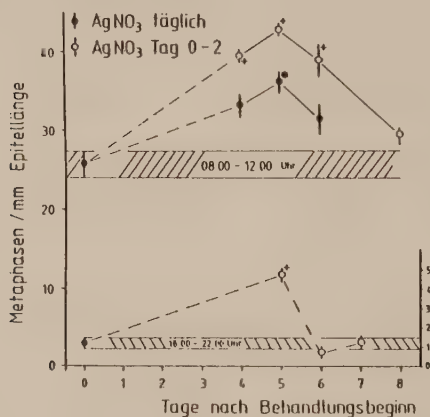


Abb. 29: Effekt der AgNO_3 -Behandlung auf die Mitoserate ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=3$, $p < 0,1$ (*), $p < 0,05$ (+)). Die oberen Kurven zeigen die Metaphasenwerte aus der Arretierung von 08.00-12.00 Uhr, die untere Kurve stellt die Sammelwerte von 18.00-22.00 Uhr dar.

Es wird deutlich, daß der Anstieg nach dreimaliger Behandlung gegenüber täglicher Behandlung wesentlich größer ist (67% statt 40% an Tag 5).

Nach diesem Maximum beginnt sofort der Rückgang.

Betrachtet man die Werte um 22.00 Uhr, so fällt auch hier der sofortige Rückgang der Werte nach einem Maximum an Tag 5 auf.

Die Wirkung verschieden konzentrierter Lösungen (je 1 min Wirkzeit) nach zwei- bis dreimaliger Applikation wurde ohne Metaphasenarretierung bestimmt. Die Behandlungen mit der 5- und 10-prozentigen Lösung erfolgte an Tag 0-2, die 15- bzw. 20-prozentige Lösung wurde nur zweimal appliziert. Parallel dazu wurde eine Kontrollgruppe mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt. Das Ergebnis ist in Abb. 30 dargestellt.

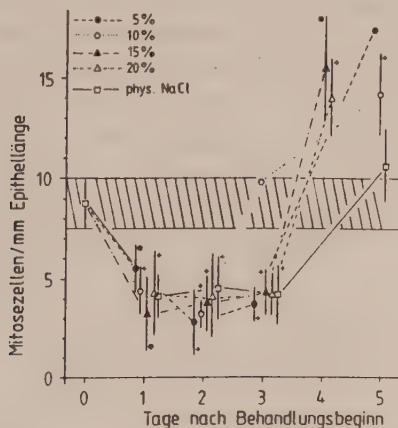


Abb. 30: Wirkung verschiedener AgNO_3 -Konzentrationen. Gezeigt ist $\bar{x} \pm \text{SD}$ ($n=2$), $p < 0,1$ (*) bzw. $p < 0,05$ (+).

Wiederum zeigt sich ein Proliferationsanstieg 3 Tage nach der letzten Behandlung.

Es ist eine nicht konzentrationsabhängige Steigerung der Anzahl an Mitosezellen je mm Epithellänge zwischen 61% (20% AgNO_3 , Tag 4) und 81% (15% AgNO_3 , Tag 4) zu erreichen. Der Wert für die fünfprozentige Lösung (100% Anstieg an Tag 5) stammt nur von der Auswertung eines Tieres, fügt sich aber gut in die Ergebnisse der dreiprozentigen Lösung (s. Abb. 29) ein. Die Werte der behandelten Kontrollgruppe steigen nicht signifikant über den Ausgangswert.

3.4.2 Wirkung von Essigsäure

Essigsäure wird in der Zahnheilkunde als Desinfiziens im Mundhöhlenbereich verwendet. Die applizierten Konzentrationen betrugen 1, 2 und 5 %, nach 1 min wurde die Zunge mit physiologischer Kochsalzlösung (geschlossene Symbole in Abb. 31) bzw. mit NaOH (offene Symbole) abgespült. Gleichzeitig wurde eine Kontrollgruppe nur mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt.

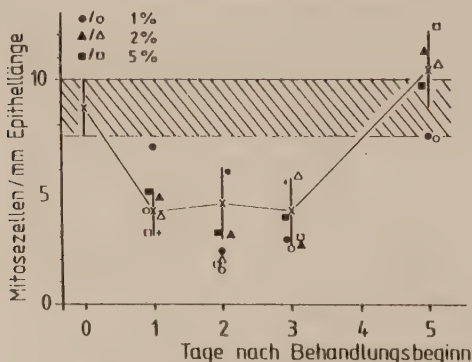


Abb. 31: Veränderungen der Mitoserate nach Essigsäure-Applikation ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n=2$, $p < 0,1$ (●), $p < 0,05$ (+)).

Es ist zu sehen (Abb. 31), daß nach der narkosebedingten Depression der Mitoserate mit keiner der verwendeten Konzentrationen eine Steigerung der Proliferation, sowohl gegenüber der behandelten (X in Abb. 31) als auch verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe, zu erreichen ist.

3.4.3 Einfluß von Wasserstoffperoxid

H₂O₂ wird, neben anderen Indikationen, ebenfalls zur Desinfektion im Bereich der Mundhöhle verwendet. In einem Vorversuch wurden 30%iges Wasserstoffperoxid auf die Zunge aufgebracht und die Veränderungen der Mitoserate (ohne Metaphasenarretierung) festgestellt.

Behandelt wurde an einem, an zwei bzw. an drei Tagen. Abb. 32 veranschaulicht, daß - der narkosebedingten Depression folgend - 3-4 Tage nach der letzten Behandlung ein Anstieg der Mitoserate stattfindet. Dieser beträgt 60, 58 bzw. 26 % nach ein-, zwei- bzw. dreimaliger Behandlung.

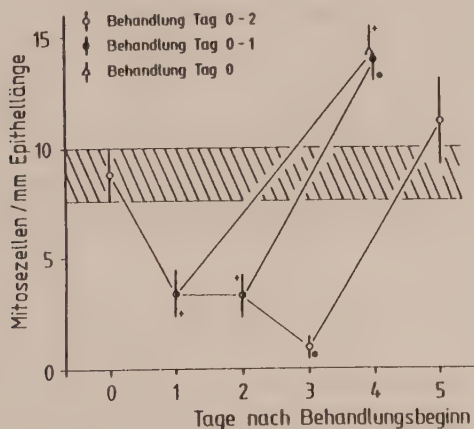


Abb. 32: Einfluß von H₂O₂ auf die Mitoserate ($\bar{x} \pm SD$, n=2, p < 0,01 (●), p < 0,05 (+)).

In weiteren Versuchen wurde - jetzt mittels der stathmokineticischen Technik - die Wirkung von 20%igem Wasserstoffperoxid nach 2 bzw. 3 täglichen und nach 2 und 3 Applikationen an einem Tag, sowie 4 Behandlungen in 2 Tagen untersucht.

Das Ergebnis verdeutlicht Abb. 33. Während durch die viermalige Applikation an 2 Tagen im untersuchten Zeitraum (Tag 3-4) keine Steigerung der Proliferation zu erreichen ist, zeigt sich sowohl bei dreimal als auch bei zweimaliger Behandlung ein deutlicher Anstieg.

Allerdings ist zu bemerken, daß mit keiner der angewandten Behandlungsmodalitäten eine Steigerung zu bewirken ist, die der der mehrmaligen täglichen Applikation vergleichbar ist. Die höchste erreichte Steigerung liegt ca. 30% über dem Kontrollwert (Tag 3 nach dreimaliger Behandlung an Tag 0).

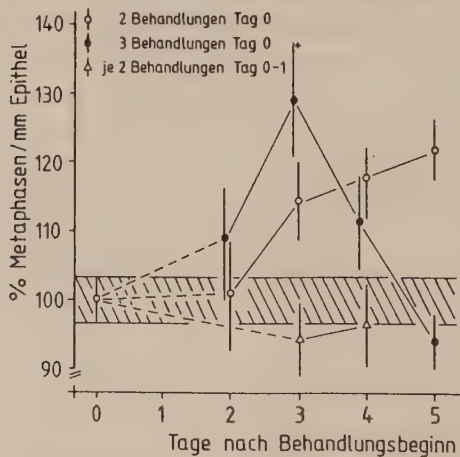


Abb. 33: Prozentuale Veränderung der Mitoserate nach mehrmaliger H_2O_2 -Behandlung pro Tag
Dargestellt ist $\bar{x} \pm SEM$ bei $n=3$. Nur für einen Wert ist $p < 0,2$ (+).

Um die Auswirkungen der H_2O_2 -Applikation auf den Zirkadianrhythmus der Proliferation zu definieren, wurden nach 2 täglichen Behandlungen (Konzentration 20%) am Tag 4 die Metaphasen-Sammelwerte um 12.00, 16.00 und 20.00 Uhr bestimmt.

Während der Wert der Mitosen je mm Epithel nach Zungenentnahme um 12.00 Uhr ca. 32% über den Kontrollwert steigt, sind die Werte von 16.00 bzw. 20.00 Uhr mit ca. 17 bzw. 3 Metaphasen/mm Epithel nur wenig von den Kontrollwerten verschieden.

Die zweimalige Behandlung hat also auf die Proliferationsrhythmik an Tag 4 keinen Einfluß, obwohl die Anzahl der an der täglichen Proliferation beteiligten Zellen größer ist, als bei nicht behandeltem Epithel.

3.5 Auswirkungen der Stimulation auf die Strahlenreaktion

Bei allen funktionellen Untersuchungen wurde $AgNO_3$, 3%, für 1 min appliziert. Diese Konzentration wurde gewählt, da zum einen die kinetischen Untersuchungen hier die größte Wirksamkeit zeigen, zum anderen höhere Konzentrationen die Vulnerabilität der Zunge stark erhöhen, so daß durch die Manipulationen bei der lokalen Bestrahlung leicht Traumatisierungen auftreten können, die die Strahlenreaktion verschleiern. Es wurden 3 tägliche Behandlungen durchgeführt, die Bestrahlungen erfolgten bzw. begannen an Tag 5.

3.5.1 Reaktion des stimulierten Epithels auf Einzeldosen

Die Strahlenempfindlichkeit des Epithels ist, verglichen mit der Kontrolle, nur gering erhöht: die ED_{50} beträgt 13 Gy gegenüber 15 Gy.

Jedoch tritt eine Verkürzung der Latenzperiode bis zum Auftreten der Symptome und bis zur Entstehung von Ulzerationen ein. Diese Verkürzung beträgt 3-4 Tage. Abb. 34 stellt dieses Ergebnis dar.

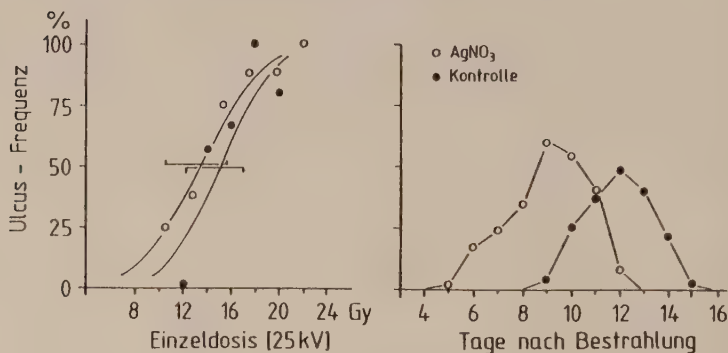


Abb. 34: Strahlenreaktion und zeitlicher Verlauf nach Einzelbestrahlung des konditionierten Zungenepithels

3.5.2 Wirkung der Vorbehandlung auf die Reaktion nach fraktionierter Bestrahlung

Die fraktionierte Strahlenbehandlung nach Konditionierung wurde mit 3 verschiedenen Dosen pro Fraktion durchgeführt (2,5 Gy; 3,5 Gy; 5,2 Gy). Es wurden 5 bzw. 3 Fraktionen (5,2 Gy) in 5 Tagen appliziert, gefolgt von lokalen Top-up-Dosen am dritten Tag nach der letzten Fraktion.

Abb. 35 zeigt den Effekt der Bestrahlung in Abhängigkeit von der Top-up-Dosis.

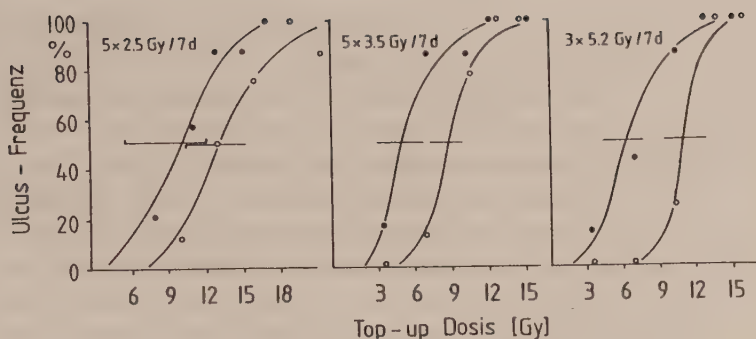


Abb. 35: Reaktion des stimulierten Epithels auf fraktionierte Strahlenbehandlung
Verglichen werden jeweils die vor der Bestrahlung durch Silbernitrat-Behandlung konditionierten Gruppen (O) mit nichtkonditionierten Kontrollgruppen (●).

Verglichen mit den nicht konditionierten Kontrollgruppen ist ein stetiger Anstieg der Strahlentoleranz mit steigender Dosis pro Fraktion zu erkennen. Die Differenz der lokalen ED_{50} beträgt 3, 3,6 und 4,7 Gy für 2,5, 3,5 und 5,2 Gy/Fraktion.

Da die Zelldepletion im Epithel, d.h. die durch die externe Bestrahlung erreichte subklinische Schädigung, von der externen Dosis abhängig ist und somit bei $5 \times 2,5$ Gy geringer ist als bei $3 \times 5,2$ Gy bzw. am höchsten bei $5 \times 3,5$ Gy, ist jeweils eine geringere lokale Strahlendosis zur Auslösung des gleichen klinischen Effekts nötig.

3.6 Strahlenreaktion des Epithels der Rattenzunge auf Einzeitbestrahlung

Die strahleninduzierte Mukositis nach den verwendeten Einzeldosen (18 bzw. 21 Gy) entspricht sowohl in der klinischen Symptomatik als auch in ihrem zeitlichen Verlauf derjenigen der Maus.

Auch in den durchgeführten histologischen Untersuchungen (Tag 11 nach 21 Gy) waren keine Unterschiede zur Reaktion des Mäusezungenepithels festzustellen. Während die Mukositis bei den Tieren, die mit Zungenabdeckung bestrahlt wurden (offene Symbole in Abb. 36), auf das exponierte Feld, nämlich 6x6 mm, beschränkt blieb, entwickelte sie sich bei den anderen Tieren zuerst an den Rändern und der Spitze der Zunge, um dann auf die Unterseite überzugreifen. Auffällig ist der stark dosisabhängige Gewichtsverlust, der in Abb. 36 dargestellt ist. Der schraffierte Bereich entspricht dem Zeitraum, in dem ulzerative Läsionen makroskopisch zu erkennen waren.

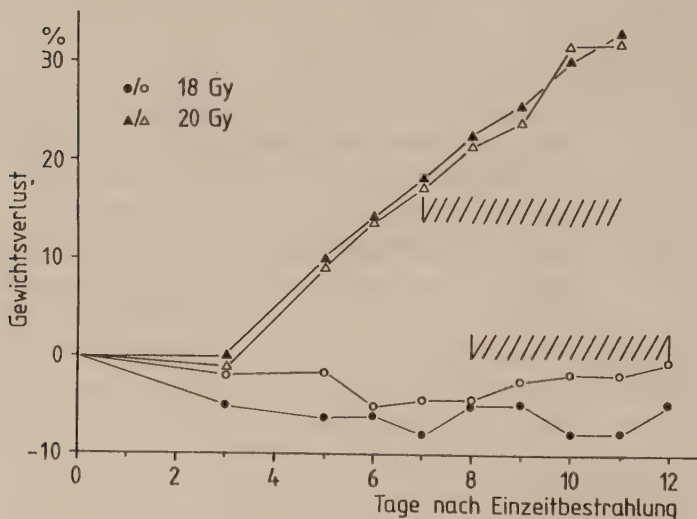


Abb. 36: Gewichtsverlauf nach Einzeitbestrahlung der Rattenzunge

4. DISKUSSION

4.1 Akute Strahlenreaktion bei Normalgeweben

Auch in adulten Organismen existieren sich ständig erneuernde Gewebe, also Gewebe mit einem hohen Zellumsatz. Zu ihnen gehören z.B. das Knochenmark, das Samenepithel, die Epithelien des gesamten Verdauungstraktes und die Haut.

Eine Strahlenschädigung solcher Gewebe kommt akut zum Ausdruck, d.h. sie zeigen nach einer relativ kurzen Latenzzeit Funktionsstörungen. Allerdings erfolgt auch die Ausheilung schnell und führt in der Regel zur vollen Restitution.

Die Zellpopulation solcher Mausergewebe zeigt einen hierarchischen Aufbau, d.h. ein Kompartiment ständig proliferierender Zellen und den Anteil der funktionellen Zellen.

Die akute Reaktion auf Strahlung ist dadurch bedingt, daß der Strahlenschaden in der Regel erst bei den auf ihn folgenden Zellteilungen exprimiert wird, d.h. es kommt dann zum Mitosetod der geschädigten Zellen. Da die eigentlichen Funktionszellen meist postmitotisch fixiert sind, stellen sie somit keinen unmittelbaren Angriffspunkt dar. Der Strahlenschaden führt jedoch zu einer Depletion des proliferierenden Kompartiments.

Speziell an Epithelien führt dieser Vorgang dazu, daß die Zellproduktion in der Germinativschicht abnimmt bzw. zum Erliegen kommt. Die ständige mechanische Abschilferung der Keratinschicht verhornender Epithelien wird auch nach der Strahlenschädigung durch die weitere Differenzierung der Zellen aus tieferen Epithelschichten ersetzt.

Jedoch kommt es durch den fehlenden Nachschub zu einer zunehmenden Verdünnung des Epithels, die schließlich in die Ausprägung einer ulzerativen Läsion, d.h. in die vollständige Denudation einmündet.

Daraus folgt, daß das eigentliche Zielgewebe der Strahlenwirkung auf Epithelien nur deren Germinativschicht, also Stratum basale und Stratum spinosum, ist.

Die Dosisabhängigkeit des Zellüberlebens kann direkt durch Bestimmung überlebender Zellen durchgeführt werden, wie dies bei der Epidermis (22, 87, 88) und am Darm (85, 86, 89) geschieht. Diese Möglichkeit bietet sich bei der Zungenmukosa bisher jedoch nicht.

Eine indirekte Möglichkeit ist die Bestimmung des Prozentsatzes an Tieren, die bei einer bestimmten Strahlendosis eine bestimmte klinische Veränderung zeigen, wie dies z.B. bei der Lippenmukosa der Maus durchgeführt wird (60, 92).

Im allgemeinen Gegensatz zu diesen sich ständig erneuernden Geweben stehen solche, die keiner oder nur einer geringen Erneuerung unterliegen und auch auf Bestrahlung chronisch reagieren, wobei diese Veränderungen durch die Strahlenschädigung von Blutgefäßen und Bindegewebe bedingt sind.

4.2 Eigenschaften und Proliferationskinetik des Zungenepithels

Das Epithel der Mäusezunge, speziell der Zungenunterseite, ist als Modell für Untersuchungen zur Problematik der strahleninduzierten Mukositis des Menschen gut geeignet.

Es stellt ein mehrschichtiges verhornendes Plattenepithel dar, das einer straffen Submukosa aufgelagert ist und weist große Ähnlichkeit mit der humanen Mundschleimhaut auf.

Die als Endpunkt der Strahlenreaktion gewählten ulzerativen Läsionen zeigen eine gut definierte Dosis-Abhängigkeit; die Beurteilung auftretender Veränderungen ist gut durchführbar, ebenso die Ausführung sowohl der externen als auch der lokalen Bestrahlung und die lokale Applikation von Substanzen.

Die Einschränkung des Expositionsfeldes auf die reine Zungenunterseite führt zu einer weitgehenden Homogenität des Zielgewebes. So ist das papillenbildende Epithel, das bei früheren Untersuchungen die vorwiegenden Veränderungen zeigte (57), nicht mehr an der Strahlenreaktion beteiligt. Dies hat, wie aus dem Vergleich der Gewichtsverläufe nach Einzeldosen ersichtlich ist (57 und Abb. 20), eine wesentlich geringere Belastung der Versuchstiere zur Folge.

Um die pathologischen Vorgänge, die zur Strahlenreaktion führen, erklären zu können, müssen die physiologischen zellkinetischen Abläufe im Epithel bekannt sein. Zu ihrer Untersuchung dient - als Alternative und Ergänzung zu autoradiographischen Methoden - die stathmokinetiche Technik. Allerdings muß sowohl die geeignete Dosis des metaphasenarretierenden Agens als auch die Sammelzeit für das entsprechende Gewebe bestimmt werden, um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden (90, 91). Die für die Anwendung von VLB an der Zungenmukosa als optimal ermittelten Werte betragen 2 mg/kg KGW als Dosis bei einer Sammelperiode von 4 h.

Der ausgeprägte zirkadiane Rhythmus der Mitoserate, der für die orale Schleimhaut des Nagers charakteristisch ist (56), läuft parallel zum Rhythmus der Syntheseaktivität der Zellen, der für die Mäusezunge bereits untersucht wurde (57). Die zeitliche Differenz beider Kurven beträgt ca. 8 h (Abb. 37).

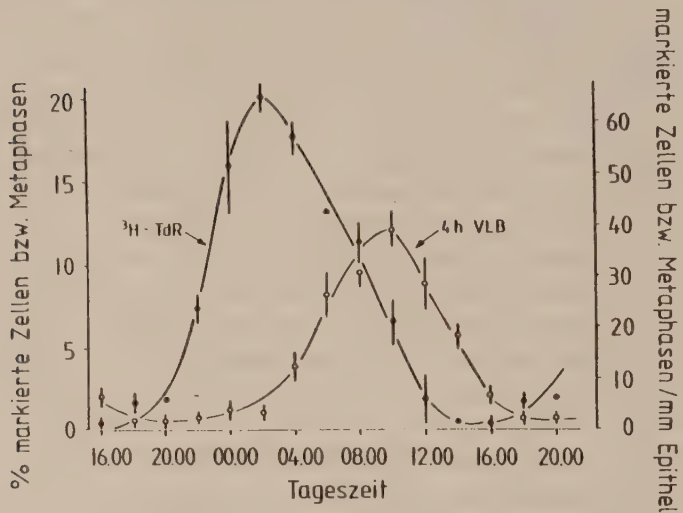


Abb. 37: Vergleich zwischen mitotischer und Syntheseaktivität des Epithels
Zellen in S-Phase (●) wurden nach einmaliger ^3H -TdR-Injektion zu den angegebenen Zeiten bestimmt. Metaphasen (○) wurden nach einer Arretierung über 4 h ausgewertet, die angegebenen Zeiten stellen die Mitte dieses Intervalls dar.

Diese Verschiebung wurde auch von anderen Untersuchern für verschiedene Abschnitte der Mundschleimhaut von Nagern beschrieben (40, 63). Diese Zeit entspricht der durchschnittlichen Dauer von halber S- plus G_2 - plus halber Mitosephase (40).

Der zeitliche Verlauf des Mitoseindex wird von einigen weiteren Untersuchern bestätigt (14, 28, 40), andere finden ihn zeitlich etwas versetzt (53) oder finden ein zweites Mitosemaximum (13, 56); letzteres wurde jedoch nur von der Schleimhaut der Backentasche des Hamsters berichtet.

Aus dem Verlauf des PLM nach einmaliger Markierung (siehe 3.2.4) ergibt sich die Dauer der S-Phase mit ca. 6 h durch Ablesen der Breite der Kurve bei der Hälfte der höchsten Anzahl markierter Metaphasen (13). Daraus ergibt sich die Dauer von G_2 - plus halber Mitosephase mit 4 h. Diese Werte entsprechen den für vergleichbare Epithelien ermittelten (14, 29, 34, 40), während die an der Mäusehaut gefundenen Zeiten (62) wesentlich länger sind.

Auch die Kohorte der an der täglichen Proliferation partizipierenden Zellen und die Turnover-Zeit wurden bereits mehrfach an vergleichbaren oralen Epithelien untersucht; die gefundenen Werte liegen alle in der gleichen Größenordnung von ca. 30% bzw. 3-5 d TT (19, 32).

Anzumerken ist, daß Methoden zur Ermittlung der Turnoverzeit, die den Tagesrhythmus nicht berücksichtigen (34), bei zyklisch proliferierenden Geweben nicht anzuwenden sind. Ebenso ist die Aussagekraft von Untersuchungen fraglich, die diese Schwankungen außer Acht lassen, bei denen z.B. keine Angaben über den Zeitpunkt von Markierungen gemacht wurden (7, 15).

Aus eigenen kombinierten stathmokineticischen und autoradiographischen Untersuchungen folgt, daß fast alle Zellen, die sich in einer Nacht in S-Phase befinden, anschließend die Mitose durchlaufen, sich dann aber an den beiden folgenden Tagen nicht mehr teilen. Diese Beobachtung läßt sich mit zwei verschiedenen existierenden Theorien erklären (39). Die eine fordert eine G_1 -Phase bestimmter Dauer (12), die andere postuliert einen Pool von Zellen in einer postmitotischen G_0 -Phase, aus dem diese entweder in die G_1 -Phase übergehen oder ihre Differenzierung durchlaufen können, ohne sich nochmals zu teilen, wie dies z.B. bei der humanen Haut bewiesen wurde (11). Zu untersuchen wäre, ob - was zu erwarten wäre - am vierten Tag die Tochterzellen der ursprünglich markierten Zellen, soweit sie sich noch in der Germinativschicht befinden und nicht in obere Epithelschichten migriert sind, wieder teilen.

Ist dies der Fall, so kann man aus der Regelmäßigkeit der Abläufe darauf schließen, daß die Zellen der oralen Mukosa einen Zellzyklus mit sehr langer G_1 -Phase (2,5 d) durchlaufen. Eine Erhöhung der Zellproduktion im Epithel wäre durch die Verkürzung eben dieser Phase und durch teilweise Aufhebung der zirkadianen Rhythmik denkbar.

Bewiesen ist, daß nicht jeden Tag zufällig Zellen aus der Germinativschicht rekrutiert werden, um den Zellzyklus von der Synthesephase bis zur G_2 -Phase zu durchlaufen, da sonst der PLM am zweiten Tag ca. 30% und am dritten Tag ca. 9% betragen müßte.

Der Einfluß von Narkosen auf die Strahlenempfindlichkeit verschiedener Gewebe unter besonderer Berücksichtigung der Verminderung der Sauerstoffsättigung wurde bereits mehrfach beschrieben (37, 70, 71, 87). Die Einwirkung auf die Zellproliferation wurde meines Wissens noch nicht untersucht. Es hat sich gezeigt, daß die tägliche Hexobarbital-Narkose eine deutliche proliferationshemmende Wirkung hat. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, daß, bedingt durch die Narkose selbst sowie v.a. durch den ausgeprägten Nachschlaf, die physiologisch auf einen längeren Zeitraum verteilte Futteraufnahme kompensatorisch auf eine kurze Zeit komprimiert wird. Hinzu kommt, daß Hexobarbital hemmend auf die Magen-Darm-Motilität wirkt und auch dadurch die Futteraufnahme über eine Verminderung des Hungergefühls reduziert (33). Es ist vorstellbar, daß dadurch die Hornschicht in einem kleineren Maße abgetragen wird und der proliferationsanregende Reiz sinkt.

Das Auftreten von Gewebsatrophie im oralen Epithel durch Wegfall mastikatorischer Faktoren wurde auch an anderer Stelle für die Ratte beschrieben (54), es wurde jedoch nur ein geringer Einfluß auf das Zungenepithel festgestellt.

Eine weitere Möglichkeit ist, daß Hexobarbital direkt auf die Zellen bzw. die proliferationssteuernde Signalgebung einwirkt. Narkoseeinflüsse konnten zwar bei Fraktionierung der Strahlendosen vermieden werden, sind aber bei lokaler Bestrahlung, Substanzapplikation und Reaktionsbeurteilung unumgänglich.

4.3 Strahlenreaktion der Mukosa

Durch das Herabsetzen der Röhrenspannung bei der lokalen Bestrahlung, und damit Verkleinerung der Halbwertstiefe der Strahlung, wird die Zungenoberseite maximal geschont; sie zeigt weder makroskopisch noch histologisch strahlenbedingte Veränderungen.

Die Belastung der Versuchstiere, zu beurteilen am Gewichtsverlauf, konnte durch die Einschränkung des Zielgewebes stark vermindert werden. Während der Gewichtsverlust bei früheren Untersuchungen (57) dosisabhängig war und bis zu 20% betrug, liegt er nun nahezu bei 0 und zeigt keinerlei Abhängigkeit von der Strahlendosis. Dies stellt einen Vorteil gegenüber dem Modell der Lippenmukosa dar, bei dem der Gewichtsverlust bis zu 40% beträgt (60, 92) und nicht selten die Euthanasie der Tiere erzwingt.

Erste Symptome an der Zungenunterseite treten nach einer Latenzzeit von 5-9 Tagen auf. Diese bestehen aus diffuser Rötung und Schwellung. Nach 1-2 Tagen gehen diese Veränderungen in eine verstärkte Desquamation des bestrahlten Epithels über. Aus dieser entwickelt sich nach weiteren 2-3 Tagen die typische strahleninduzierte Ulzeration, die über 1-4 Tage besteht. Sie ist überzogen von einer weißlich-schimmernden Pseudomembran.

Als histologisches Äquivalent zu diesen Vorgängen stellt sich der Zerfall und die abnorme Verhornung vieler abgestorbener Zellen dar.

Da kein Zellnachschiebung aus der Germinativschicht mehr stattfindet, kommt es durch weitere Abschilferung zur vollständigen Denudation, die überdeckt wird von Fibrin, vermischt mit Hornresten.

Die Bewertung der Veränderungen unter Anwendung eines numerischen Maßstabes, wie beim Menschen (79) und bei der Mäuselippe (60, 79, 91), führt beim Zungenepithel zu keinem befriedigendem Ergebnis, da sich aufgrund des kleinen Expositionsfeldes die auftretenden Kardinalsymptome nicht weiter differenzieren lassen und die Wertigkeit der einzelnen Symptome nicht genau zu bestimmen ist.

Das Epithel der Rattenzunge bietet gegenüber dem der Maus nicht den Vorteil, bei der histologischen Beurteilung überlebende Zellen im geschädigten Gewebe quantitativ auszuwerten, wie dies am Darmepithel (85, 86, 89) und bei der Epidermis (22) durchgeführt wird. Hochgradige Gewichtsverluste treten sowohl mit als auch ohne Einschränkung des Expositionsfeldes auf.

Die Diskrepanz zwischen der ermittelten Turnover-Zeit des Epithels (3-4 Tage) und der Latenzzeit (ca. 7 d) bis zur Entstehung der Strahlenreaktion läßt sich durch die Vorgänge auf Gewebs- und Zellebene erklären. Das unbehandelte Epithel befindet sich in einem dynamischen Gleichgewicht (steady state). Das bedeutet, daß der durch ständige Abschilferung oberster Hornschichten auftretende Substanzverlust ständig durch Keratinisierung von Zellen aus dem Stratum lucidum ergänzt wird.

Diese Schicht wiederum wird ständig durch Differenzierung von Zellen aus den tieferen Epithelschichten aufgefüllt. Voraussetzung dafür, daß die Zellzahl in allen Schichten ständig gleich bleibt, ist, daß im Durchschnitt bei jeder Zellteilung in der Germinativschicht zwei Zellen mit verschiedenen Bestimmungen entstehen. Die eine dieser Tochterzellen bleibt in der Basalschicht, um sich wiederum zu teilen, die andere geht in die Differenzierung über.

Der durch Einzeitbestrahlung ausgelöste Strahlenschaden kommt erst bei einer der nachfolgenden Zellteilungen zum Ausdruck. Die eine Möglichkeit hierbei ist der sofortige Mitosetod der sich teilenden Zelle, die andere ist, daß die Zelle zwar noch eine oder mehrere Teilungen vollenden kann, jedoch nicht mehr ihre unbegrenzte Teilungsfähigkeit besitzt.

Somit kommt es zu einer progressiven Zellverarmung aller Epithelschichten von unten bis hin zur Hornschicht. Rein rechnerisch ergibt sich, da die Latenzzeit ca. doppelt so lange ist wie die Turnoverzeit des Gewebes, daß im Durchschnitt jede Zelle noch eine Teilung durchführt. Allerdings ist anzumerken, daß auch solche Zellen, die sich aufgrund ihres Strahlenschadens nicht mehr teilen, trotzdem die Differenzierung durchlaufen.

Durch diese Vorgänge, nämlich Auftreten einer oder mehrerer abortiver Teilungen und Differenzierung teilungsunfähiger Zellen, wird der Zeitpunkt des Eintretens ulzerativer Veränderungen verzögert.

Aus in vitro-Versuchen zur Strahlenempfindlichkeit ist bekannt, daß diese u.a. abhängig von der jeweiligen Zellzyklusphase ist, in der sich die Zelle befindet. So sind Zellen in der G₂- und Mitosephase wesentlich empfindlicher, als Zellen, die sich in der frühen G₁- und S-Phase befinden.

Deshalb wäre zu erwarten, daß eine Strahlenapplikation um ca. 10.00 Uhr, also zu einer Zeit, in der im Epithel viele G₂- und Mitosezellen vorhanden sind, eine verstärkte mukosale Reaktion, verglichen mit einer Bestrahlung um 02.00 Uhr hervorruft. Dies hat sich jedoch experimentell nicht bestätigt (58).

Auch bei der Strahlenreaktion der Mäusehaut, die ebenfalls einen ausgeprägten Proliferationsrhythmus aufweist, wurde keine unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit gefunden (30).

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, daß sich zu beiden Applikationszeiten nur 27% der Zellen in ihrer Strahlensensibilität unterscheiden, während ca. 73% den gleichen Empfindlichkeits-Status innehaben. Eine unterschiedliche Schädigung dieser proliferierenden Kohorte könnte nicht ausreichen, um die Strahlentoleranz des Gesamtepithels zu verändern.

Die Strahlenreaktion der Mäuselippe setzt ebenfalls nach ca. 5-7 Tagen ein und erreicht ihren Höhepunkt um Tag 12 (nach Einzeldosen), dauert aber beträchtlich länger als die der Zunge (60, 92). Die Strahlenempfindlichkeit, gemessen an der ED₅₀, ist bei beiden Modellen gleich.

Die klinische Symptomatik der Strahlenreaktion entspricht der des Menschen. Allerdings ist - aufgrund des kleinen Expositionsfeldes - eine disseminierte von einer konfluierenden Form der Mukositis nicht zu unterscheiden.

Die mukosale Reaktion des Menschen tritt - bei konventioneller Therapie mit 2 Gy/d am Ende der zweiten Bestrahlungswoche ein und erreicht ein Maximum am Ende der 5. Behandlungswoche nach ca. 50-60 Gy (67). Ihre Dauer ist abhängig von verschiedenen Faktoren. Wird die Therapie unterbrochen, so heilt sie nach ca. 2 Wochen aus, werden die Bestrahlungen kontinuierlich durchgeführt, so besteht sie bis ca. 3 Wochen nach Therapieende (67). Weitere Faktoren, die die Heilung verzögern können, sind mangelnde Mundhygiene, das Auftreten von Infektionen, Nikotin- und Alkoholgenuß (51, 67).

Die Latenzperiode des Mäusezungenepithels bis zum Auftreten von Ulzerationen ist somit kürzer als die der menschlichen Mundschleimhaut. Auch die Dauer der Strahlenreaktion ist wesentlich geringer als beim Menschen.

4.4 Strahlenreaktion mitbestrahlter Gewebe

Bei der Methode der externen Bestrahlung werden einige Gewebe mitbestrahlt, deren Strahlenempfindlichkeit so groß ist, daß sie im verwendeten Dosisbereich einen Strahlenschaden zum Ausdruck bringen.

Die bei der Schnauzenbestrahlung auftretenden Veränderungen bezüglich der Salivation stellen akute bis subakute Reaktionen auf die Bestrahlung dar. Inwieweit auch chronische Schäden (Atrophie der Speicheldrüsen, Xerostomie) auftreten, wurde nicht untersucht.

Als Grundlage dieser akuten Veränderungen des Speichelflusses muß zunächst eine direkte Strahlenreaktion der Speicheldrüsen in Betracht gezogen werden.

Die großen Kopfspeicheldrüsen der Maus sind rein makroskopisch kaum zu beurteilen. Der auftretende Gewichtsverlust entspricht dem von anderen Untersuchern nach Speicheldrüsenbestrahlung beschriebenen (38), jedoch fehlt in der Literatur der Hinweis auf übermäßigen Speichelfluß.

Die Reaktion der Speicheldrüsen auf Bestrahlung wurde von mehreren Experimentatoren mit histologischen und histochemischen Methoden untersucht, von denen die meisten sich allerdings nur auf die chronischen Schäden beschränkten (1, 17, 68, 69).

Andererseits ist es - aufgrund der klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde - jedoch wahrscheinlicher, daß es sich lediglich um eine durch die sich entwickelnde, subklinische Mukositis ausgelöste, reflektorische Hypersekretion handelt.

Die auftretenden Hautveränderungen entsprechen in ihrem Verlauf und ihrer Ausprägung den bereits mehrfach beschriebenen (22, 26).

Auch der beobachtete Zahnausfall nach 40 bis 60 Tagen wurde bereits beschrieben (44, 77). Er ist auf die Strahlenschädigung der Odontoblasten zurückzuführen.

4.5 Dosisabhängigkeit der Strahlenwirkung

Die Beurteilung der Dosiswirkung ist leicht durchführbar, so daß die Ergebnisse gut definiert sind.

Die resultierenden Dosis-Effekt-Kurven haben eine sigmoide Form und sind steil; das Intervall ED_{10} bis ED_{50} ist ca. 10 Gy für Einzeitbestrahlung. Aus den dosisabhängigen Ulcusfrequenzen lassen sich - abhängig von der verwendeten Tierzahl - Dosisunterschiede ab 1 Gy erkennen.

Bei nicht stochastischen Strahlenwirkungen ist ein quantaler Effekt, der sich mittels Probit-Analyse in Dosis-Effekt-Kurven umsetzen läßt, durchaus wünschenswert. Allerdings ist anzumerken, daß bei dieser Art der Analyse theoretisch auch die Wirkung sehr kleiner Strahlendosen (kleiner als ED_{10}) errechnet wird. Da aber eine bestimmte Schwellendosis überschritten werden muß, um eine Reaktion des Epithels zu erreichen, dürfen diese Werte nicht berücksichtigt werden.

Die zelluläre Interpretation hierfür ist, daß - in Abhängigkeit von der Dosis - eine bestimmte Anzahl von Zellen sterilisiert wird. Unterhalb einer bestimmten Dosis jedoch reicht die Zahl überlebender Zellen immer aus, um den Strahlenschaden zu überdecken und die Entstehung von Ulzerationen zu vermeiden.

Es existieren mathematische Modelle, die aus den resultierenden, probit-analysierten Dosis-Effekt-Kurven auf die Anzahl hypothetisch vorhandener sog.

tissue-rescuing-units (TRUs) schließen. Diese Einheiten stellen Zellen oder Zellverbände dar, die, wenn auch nur eine einzige TRU die Bestrahlung überlebt, das Auftreten des Strahlenschadens verhindern können.

Allerdings stellen diese Modelle extreme Vereinfachungen des komplexen Geschehens dar, das zur Entstehung des Strahlenschadens führt.

Ein Faktor, der die Dosisabhängigkeit beeinflussen kann, ist die Narkose durch die evtl. entstehende Hypoxie. In früheren Untersuchungen an der Mäusezunge (57) wurde die Inhalationsnarkose angewandt. In eigenen Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Enfluran- O_2 -Narkose die Strahlentoleranz gegenüber der Hexobarbitalanästhesie geringfügig erhöht.

Ein Zusammenhang mit der proliferationshemmenden Wirkung des Hexobarbital ist fraglich.

Allerdings wurde in einem Versuch mit Misonidazol festgestellt, daß die durch Hexobarbital-Narkose bei Einzeitbestrahlung auftretende Hypoxie nur geringgradig ist.

4.6 Abhängigkeit der Strahlenreaktion von der Dosis-Fraktionierung

Die Methode der Schnauzenbestrahlung hat den Vorteil, daß bei Fraktionierungsversuchen wiederholte Manipulationen am Zielgewebe, die Einfluß auf die Strahlenantwort haben können, vermieden werden.

Durch externe Bestrahlung ohne Narkose, ähnlich dem anfänglichen System zur Bestrahlung der Mäuselippe (60) und Systemen zur Bestrahlung der Mäusehaut (21), konnte auch der Einfluß häufiger, v.a. mehrmaliger Narkosen pro Tag ausgeschaltet werden. Deshalb wird das Narkosesystem, welches zur Simultanbestrahlung der Schnauzen von 16 Tieren beschrieben wurde (6), von uns nicht angewandt.

Als am besten geeignete Methode zur mathematischen Beschreibung der biologischen Strahlenwirkung unter Berücksichtigung des Fraktionierungseffektes gilt heute das linear-quadratische (LQ-) Modell (8, 25, 65, 74). Es basiert auf der Überlegung, daß Strahlung zwei Arten von Zellschäden verursachen kann. Zum einen sind dies Schäden, die für sich auf zellulärer Ebene effektiv sind, also zum Zelltod führen. Die Anzahl dieser Schäden ist linear abhängig von der Strahlendosis (Single hit-Komponente).

Die zweite Art von Schaden ist subeffektiv und führt nur durch Interaktion mit anderen solcher Schäden zum Zelltod. Diese werden in einer bestimmten, von der Zellart abhängigen Halbwertszeit zu 50% repariert. (Dies entspricht dem SLD = sublethal damage nach Elkind und Sutton). Die Effekte, die durch Interaktion subeffektiver Schäden ausgelöst werden, sind abhängig vom Quadrat der Strahlendosis.

Die Wirkung einer Einzeldosis läßt sich somit mathematisch nach Gleichung 1 beschreiben.

$$E = \alpha \cdot D + \beta \cdot D^2 \quad (1)$$

Bei Fraktionierung lautet die Beschreibung:

$$E = n(\alpha d_n + \beta d_n^2) \quad (2)$$

Hierbei ist E der ausgelöste Effekt, D die Strahlendosis, d_n die Dosis pro Fraktion und n die Zahl der Fraktionen. Die konstanten Faktoren α und β sind abhängig vom gemessenen Effekt, vom untersuchten Gewebe und vom Versuchsprotokoll.

Bei Strahlenschäden, bei denen die absolute Größe von E quantitativ nicht erfaßbar ist, also keine Zell-Überlebenskurven zu erstellen sind, kann nur das Verhältnis $\alpha : \beta$ zur Beschreibung herangezogen werden, um den Fraktionierungseffekt zu definieren. Dies geschieht nach Gleichung 3:

$$\alpha / \beta D + D^2 = n(\alpha / \beta d_n + d_n^2) \quad (3)$$

Um den entsprechenden α / β -Faktor der Strahlenreaktion nach externer Bestrahlung (300 kV) zu bestimmen, wurde das 'Top-up'-Prinzip angewandt: durch Fraktionierung nach verschiedenen Protokollen mit variablen Dosen pro Fraktion (siehe 2.5.2.1) wird als Teileffekt eine subklinische Vorschädigung des Epithels bewirkt.

Die klinische Reaktion wird daraufhin durch Applikation einer konstanten lokalen Strahlendosis ausgelöst. Für diese Art von Versuchen sind 2 Faktoren zu berücksichtigen. Zum einen müssen die Abstände zwischen den einzelnen Fraktionen genügend groß sein, um eine vollständige Reparatur des erholbaren Strahlenschadens zu gewährleisten, zum anderen darf die Gesamtbehandlungszeit eine gewisse Dauer nicht überschreiten, da sonst der Einfluß regenerativer Vorgänge nicht auszuschließen ist (4, 8).

Setzt man dies für den 50%-Effekt in ein F_e -Diagramm (Auftragung des Reziprokwertes der Gesamtdosis in Abhängigkeit von der Dosis/Fraktion) um, so ergibt sich aus dem Schnittpunkt der resultierenden Geraden mit der Abszisse der α/β -Koeffizient (Abb. 38). Dies basiert auf der Umformung von Gleichung 2 auf S. 90 in die Form $1/D = \alpha/E + \beta/E d$.

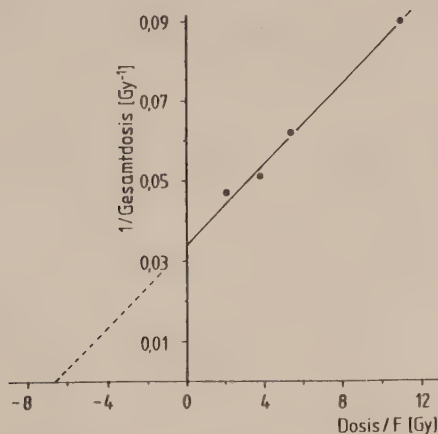


Abb. 38: F_e -Diagramm zur Bestimmung des α/β -wertes für die externe Bestrahlung
Die Gleichung der sich ergebenden Regressionsgeraden lautet: $f(x) = 5,12 \cdot 10^{-3}x + 3,397 \cdot 10^{-2}$.
Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,9937.

Der α/β -Wert des Zungenepithels für die Schnauzenbestrahlung beträgt ca. 6,7 Gy.

Eine Methode, um zu prüfen, ob sich das entsprechende Versuchsmodell mit dem LQ-Modell beschreiben läßt, besteht darin, daß zeichnerisch die Unterschiede in den Gesamtdosen einzelner Fraktionierungsprotokolle

$$\Delta D = D_n - D_m$$

gegen die Unterschiede aus den Produkten von Gesamtdosis und zugehöriger Dosis/Fraktion

$$\Delta Dd = D_m d_m - D_n d_n$$

aufgetragen werden (25, 76).

Trifft das LQ-Modell zu, so geht die resultierende Regressionsgerade durch den Ursprung des Koordinatensystems; sie hat die Steigung β/α (76).

Abb. 39 zeigt dieses Diagramm.

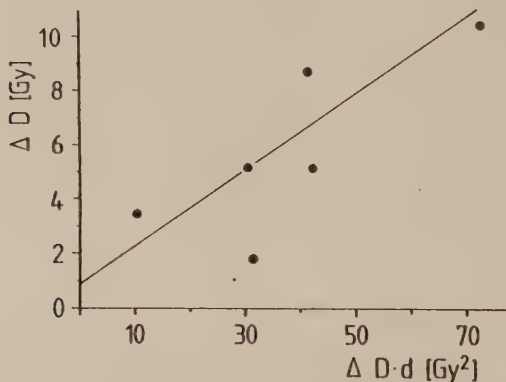


Abb. 39: Zeichnerische Bestimmung des β/α -Wertes
 Der sich ergebende Wert beträgt $0,13 \text{ Gy}^{-1}$,
 der daraus zu errechnende α/β -Wert $7,6 \text{ Gy}$.
 Die Gleichung der Geraden lautet
 $f(x) = 0,1267 x + 0.971$,
 der Korrelationskoeffizient beträgt $0,7915$.

Das Fraktionierungsverhalten der Mukosa der Zungenunterseite ist gut mit dem linear-quadratischen Modell der Strahlenwirkung zu definieren, die Abweichung vom Nullpunkt entsteht durch die Schwankung der Werte im jeweiligen Versuch.

Der für die lokale Bestrahlung gefundene α/β -Wert beträgt 14,4 Gy (57); er ist einer der höchsten jemals für Normalgewebe ermittelten.

Es ist jedoch anzumerken, daß die Untersuchungstechnik hierbei in einigen Punkten abweicht, so in der Eingrenzung des Bestrahlungsfeldes. Vor allem ist jedoch bei lokaler Bestrahlung ein schädigender Einfluß der wiederholten Irritation des Zielgewebes (Austrocknung, mechanische Beanspruchung) in Betracht zu ziehen. Er wäre von der Zahl der Fraktionen abhängig und würde in Richtung eines zu hohen α/β -Wertes wirksam werden.

Für die externe Bestrahlung ergibt sich ein Wert von ca. 7 Gy.

Der für die Mukosa der Mäuselippe ermittelte α/β -Wert wurde mit 8,5 Gy (4) bzw. 6 Gy (2) angegeben. Insgesamt ergibt sich also eine Schwankungsbreite von 6-14 Gy für die orale Mukosa, ein Wert der typisch ist für akut reagierende Gewebe. Im Gegensatz dazu stehen chronisch reagierende Gewebe mit α/β -Werten kleiner als 6 Gy (74).

Die Dauer, die das Gewebe benötigt, um den subletalen Strahlenschaden nahezu vollständig zu erholen, wurde an der Mäuselippe genau untersucht (4). Es hat sich gezeigt, daß sie dosisabhängig ist und z.B. bei 5-6 Gy 3 h, bei 10 Gy etwas über 4 h beträgt. Demgegenüber benötigt die Haut bei 1 Gy 3 h und bei 3,4 Gy bereits 6 h für die Erholung (21).

Die Bestrahlungsintervalle bei Versuchen mit mehreren Fraktionen pro Tag wurden für die Zunge deshalb mit 6 bzw. 4 h angesetzt, was sicherlich für eine vollständige Reparation des erholbaren Schadens ausreicht.

4.7 Regenerationsleistung des Zungenepithels

Bei der fraktionierten Strahlenbehandlung von Geweben mit schnellen Turnover-Zeiten, wie Darmschleimhaut, Haut und auch Mundschleimhaut, stellt die Regeneration bzw. Repopulierung einen wichtigen Faktor der Strahlentoleranz dar. Bei der Nagerhaut setzt sie zwischen 11 und 17 Tagen nach Behandlungsbeginn ein (5, 20, 21, 24). Aus Untersuchungen an der Lippenmukosa (3) ist bekannt, daß sie dort wesentlich früher, nämlich bereits nach 3 Tagen beginnt und über 10 d exponentiell ansteigt. Dies gilt auch für die Colon- und Jejunum-Schleimhaut (85, 86, 89).

Die Untersuchungen an der Zungenunterseite beschreiben die Repopulierung als Gesamtwert an zusätzlich zu applizierender Dosis, d.h. als 'repopulierte Dosis' für jeweils eine Woche über 1 bis 2 bzw. 3 Wochen.

Zu ihrer Feststellung dienen Fraktionierungsversuche mit konstanten Dosen pro Fraktion, gefolgt von variablen Top-up-Dosen, wobei die Fraktionierung zum einen täglich (konventionell), zum anderen konzentriert appliziert werden (siehe Abb. 8).

Die gefundenen Werte unterschätzen jedoch den Realwert v.a. für die zweite und dritte Woche, da bei den in kurzer Zeit applizierten Strahlendosen jeweils 16 h Bestrahlungspause (Nacht) beinhaltet sind.

Das Ausmaß der Repopulierung ist stark abhängig von der Dosis pro Fraktion. So zeigt sich, daß sie bei 2,5 Gy/F (Bestrahlung ohne Narkose) im Laufe der ersten Woche beginnt und bereits in der zweiten Woche ihr maximales Plateau erreicht hat. Die isoeffektiven Top-up-Dosen (ED_{50}) sind 2,4 Gy in der ersten, 3,9 Gy in der zweiten und 3,6 Gy in der dritten Woche.

Demgegenüber ist bei 3,5 Gy/F der Anstieg wesentlich steiler und der Wert in der zweiten Woche mit 7 Gy wesentlich höher. Ob es sich bei diesem Wert bereits um das Maximum handelt, konnte bei diesem Versuchsprotokoll nicht nachgewiesen werden, da 5 weitere Fraktionen bereits per se eine Mukositis ausgelöst hätten und die Werte somit nicht mehr vergleichbar wären.

Diese Werte können nach dem LQ-Modell in die Anzahl zusätzlich zu applizierender externer Fraktionen umgerechnet werden. Dies geschieht nach der Formel

$$\alpha TU + \beta TU^2 = n(\alpha' d + \beta' d^2)$$

Hierbei ist TU die Differenz der Top-up-Dosen, d die Dosis pro externe Fraktion, $\alpha/\beta = 14$ Gy (für die lokale Bestrahlung) und $\alpha'/\beta' = 7$ Gy (für 300 kV). Unter Einbeziehung des Verhältnisses $\beta/\beta' = 1,7$ ergibt sich die Anzahl der Fraktionen der Größe d, die dem Unterschied der Top-up-Dosen äquivalent sind. Dieses Verhältnis erscheint gerechtfertigt, da zum einen sowohl α als auch β abhängig von der Strahlenqualität sind (9), zum anderen die Auswertung aller eigenen Versuchsergebnisse diesen Faktor ergibt.

Die Umrechnung der o.g. Ergebnisse ergibt für 2,5 Gy/F 1,0 bzw. 1,7 Fraktionen in der ersten bzw. zweiten und dritten Woche und für 3,5 Gy/F 0,5 und 2,4 Fraktionen in der ersten und zweiten Woche.

Der Grund für die dosisabhängige Steigerung der Regenerationsleistung ist komplex. Die höhere Dosis bedingt eine höhere Zellinaktivierungsrate, einen größeren Mitoseverzug und eine geringere Wahrscheinlichkeit für abortive Teilungen, was zu einer früheren Manifestation und zu einem höheren Ausmaß des Gewebsschadens führt.

Demgegenüber setzt sie durch die größere Zelldepletion einen stärkeren Proliferationsreiz und fördert damit die kompensatorische Regeneration. Die Gesamtwirkung resultiert aus dem Überwiegen der einen oder der anderen Wirkung.

Der Vergleich der Ergebnisse aus Versuchen mit und ohne Narkose zur externen Bestrahlung zeigt, daß die Hexobarbiturat-Anästhesie einen hemmenden Einfluß auf die Regeneration hat.

4.8 Stimulation der Regenerationsleistung des Zungenepithels

Möglichkeiten zur Stimulation der proliferativen Reservekapazität und damit zur Erhöhung der Strahlenresistenz des Epithels wurden untersucht.

Deren Ziel war es, die Proliferation des Epithels bereits vor der ersten Fraktion zu aktivieren, so daß sie durch die Bestrahlung nur noch auf ihrem Maximum gehalten werden muß.

Als geeignete Maßnahmen zur Proliferationsanregung dienen lokale Applikationen von Agenzien, für die in der Klinik mehrere Indikationen bestehen. In der Einfachheit der lokalen Applikation besteht ein großer Vorteil unseres Modells.

Um das Ausmaß der stimulierenden Wirkung direkt zu bestimmen und den Versuchstieraufwand zu senken, wird die Wirkung verschiedener Agenzien und Behandlungsprotokolle vor ihrer funktionellen Testung stathmokinestisch überprüft.

Versuche, die Proliferation im Bereich der Mundhöhle anzuregen, wurden bereits beschrieben. Silbernitrat wurde auf Haut und Zunge von Ratten appliziert (10) und mit der Wirkung mechanischer Traumatisierung (Schnittwunden) verglichen. Allerdings wird in dieser Untersuchung keinerlei Bezug auf den zirkadianen Proliferationsrhythmus genommen, so daß die Ergebnisse schwer zu bewerten sind. Auch Angaben zur Narkose und zur genauen Versuchsdurchführung (verwendete AgNO_3 -Konzentration, Anwendungsmodus) fehlen. Die histologischen Befunde, nämlich jegliches Fehlen von Veränderungen im subepithelialen Bindegewebe und in tieferen Epithelschichten, entsprechen den Beobachtungen an der Mäusezunge.

Die kinetischen Veränderungen unterscheiden sich jedoch stark voneinander. Während an der Zunge die maximale Aktivierung an Tag 5 nach dreimaliger Behandlung auftritt, wurde in jenen Untersuchungen das Maximum nach 24 h beobachtet, die Normalwerte waren nach 48 h wieder erreicht. Der Anstieg des Markierungsindex auf den dreifachen Wert ist aufgrund der fehlenden Angaben zur Tageszeit nicht zu beurteilen.

Die beschriebenen mechanischen Traumatisierungen sollten an der Zungenmukosa nicht durchgeführt werden, da die Belastung der Versuchstiere zu groß ist.

Der an der Zungenunterseite beobachtete Anstieg der Mitoserate nach Silbernitrat-Applikation beträgt bis zu 100%, wobei auch die Aktivität in der Nachtphase ansteigt. Die Konzentration der Lösung hat, da der Prozeß ein Vordringen in die Tiefe selbst unterbindet, keinen Einfluß auf die stimulierende Wirkung.

Der Vorteil geringerer Konzentrationen (3%) ist aber, daß die Zungen gegenüber der Berührung mit der Pinzette (bei wiederholter Applikation) weniger empfindlich sind.

Essigsäure, die in der Klinik als Mundhöhlendesinfektion verwendet wird, hat in Konzentrationen zwischen ein und fünf Prozent keinerlei erkennbare Wirkung auf die Proliferationsrate.

Auch die Wirkung von Wasserstoffperoxid auf die orale Mukosa des Menschen wurde bereits untersucht (27). In dieser Arbeit wurden Einflüsse des Tagesrhythmus umgangen. Die Applikation erfolgte 3x/Woche über den sehr langen Zeitraum von 30 d. Der erreichte Anstieg des Markierungsindex war das achtfache (junge Individuen) bzw. das fünffache des Normalwertes in der älteren Gruppe, allerdings zeigen sich sehr starke Abweichungen in den einzelnen Gruppen. Die Auswertung der Mitosen erfolgte ohne Metaphasen-Arretierung.

Der Einfluß der beschriebenen Verlängerung der Prophase, die hier zu einer Erhöhung der Werte führt, kann durch Anwendung der stathmokineticen Technik ausgeschaltet werden.

Mit den in dieser Arbeit untersuchten Behandlungsprotokollen konnte maximal eine Steigerung von ca. 30% über den Kontrollwert erreicht werden. Allerdings wird das Zungenepithel nach mehrmaliger Behandlung gegen Berührung mit der Pinzette sehr empfindlich, so daß es leicht zu Läsionen an der Zungenspitze kommt. Deshalb ist die Konditionierung mit Silbernitrat derjenigen mit Wasserstoffperoxid vorzuziehen.

Der Einfluß dieser artifiziellen Erhöhung der Proliferationsrate auf die Strahlenreaktion des Epithels wurde in der vorliegenden Arbeit sowohl mit Einzeitbestrahlung als auch mit fraktionierter Strahlenapplikation untersucht.

Bestrahlt man Zungen, die an drei Tagen mit AgNO_3 vorbehandelt wurden, an Tag 5 mit Einzeldosen, so tritt - bei nahezu gleicher Strahlenempfindlichkeit - eine Verkürzung der Latenzzeit bis zum Entstehen von ulzerativen Veränderungen um 2 Tage auf. Geht man davon aus, daß die Zahl täglich an der Proliferation teilnehmenden Zellen, die normal ca. 27% beträgt, durch die Konditionierung um 70% erhöht ist, so errechnet sich daraus die Turnover-Zeit des stimulierten Epithels mit 2,2 Tagen. Die Diskrepanz zwischen Turnover- und Transitzeit beruht wiederum auf der Differenzierung teilungsunfähiger Zellen bzw. dem Ablaufen abortiver Teilungen in der Germinativschicht.

Beginnt man auf dem Höhepunkt der Aktivierung, also wiederum an Tag 5, die fraktionierte Strahlenbehandlung über eine Woche, so zeigt sich eine wesentliche Steigerung der Strahlentoleranz gegenüber nichtkonditionierten Kontrollen.

Die Differenz der lokalen ED_{50} beträgt 3, 3,6 und 4,7 Gy für 2,5, 3,5 und 5,2 Gy/Fraktion.

Drückt man dies nach dem LQ-Modell in externen Fraktionen aus, so ergibt sich, daß nach Konditionierung 1,3 , 1,0 bzw. 0,9 Fraktionen der jeweiligen Größe zusätzlich appliziert werden können.

Die Abhängigkeit der Resistenzerhöhung von der Dosis pro Fraktion ist damit zu erklären, daß die Zelldepletion pro Fraktion, und somit der proliferationsanregende Reiz dosisabhängig ist, und deshalb kleine Dosen (2,5 Gy) nicht in der Lage sind, die Regeneration auf ihrem hohen Wert zu halten, während große Dosen pro Fraktion (5,2 Gy) die Aufrechterhaltung bzw. eine weitere Steigerung der Repopulierungsrate bewirken.

4.8 Ausblick

Abschließend sollen die Implikationen der vorliegenden Ergebnisse für die Strahlentherapie von Kopf-Hals-Tumoren genannt werden.

Bei split-course-Behandlungen wird die Bestrahlungspause dann durchgeführt, wenn die Mukositis bereits entstanden ist. Da jedoch die Regenerationsleistung des Epithels bereits vor diesem Zeitpunkt sehr hohe Ausmaße erreicht, könnte durch eine Vorverlegung der Therapiepause eine optimale Nutzung der regenerativen Kapazität erreicht werden.

Auch eine diskontinuierliche Therapie, d.h. fraktionierte Strahlenbehandlung in mehreren kleinen Blöcken, wäre zu erwägen. Durch jeden Bestrahlungsblock würde hier nur eine subklinische Schädigung der Mukosa bewirkt, trotzdem aber die Regeneration angeregt, so daß die Strahlentoleranz beim nächsten Bestrahlungsblock (bei maximaler Regeneration) erhöht wäre (3, 5).

Allerdings besteht hier die Gefahr, daß das Tumorgewebe in gleicher Weise reagiert und somit kein therapeutischer Erfolg erzielt würde. Über die homöostatische Kontrolle der Repopulierung im Tumor liegen leider keine Daten vor.

Die lokale Vorbehandlung mit proliferationsstimulierender Wirkung könnte eine geeignete Maßnahme sein, um die Strahlentoleranz des Normalgewebes zu steigern, ohne daß die Zellvermehrung im Tumor verändert wird. Somit könnte möglicherweise die auf den Tumor zu applizierende Dosis gegenüber nicht konditionierten Patienten erhöht, die Heilungschance somit verbessert werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Strahlenreaktion des Zungenepithels der Maus dient als Tiermodell für die akute strahlenbedingte Mukositis des Menschen, die häufig eine schwere Komplikation bei der Therapie fortgeschrittener Kopf-Hals-Tumoren darstellt. Ulzerative Läsionen können ausgelöst werden durch rein lokale Bestrahlung des Epithels (25 kV Röntgenstrahlen) oder, bei fraktionierter Strahlenapplikation, auch durch externe Bestrahlung der Schnauze (300 kV Röntgenstrahlen), gefolgt von einer lokalen 'Top-up'-Dosis (25 kV).

Nach Einzeitbestrahlung treten Ulzerationen nach 8-11 Tagen auf und bestehen über 1-4 Tage. Ihre Auslösbarkeit ist streng dosisabhängig, die ED_{50} liegt bei 15 Gy.

Das Epithel zeigt einen ausgeprägten zirkadianen Proliferationsrhythmus. Der Anteil sich täglich teilender Zellen beträgt 27%, die Turnover-Zeit 3,7 Tage. Die postmitotische G_1 -Phase dauert ca. 2,5 Tage.

Regenerative Vorgänge beginnen unter konventionell fraktionierter Bestrahlung in der ersten Behandlungswoche; ihr Ausmaß ist abhängig von der Dosis/Fraktion. Bei 2,5 Gy/d werden hierdurch in der ersten Woche 1,0, in der zweiten Woche 1,7 Fraktionen kompensiert, nach 3,5 Gy/d sind dies 0,5 Fraktionen in der ersten bzw. 2,4 Fraktionen in der zweiten Woche.

Eine Aktivierung dieser regenerativen Reserve ist durch lokale Applikation von Silbernitratlösung (3%) zu erzielen. Sie erreicht ihr Maximum, nahezu die doppelte Mitoserate, an Tag 5 nach dreimaliger Behandlung. Bestrahlt man vorbehandeltes Epithel mit Einzeldosen, so zeigt sich bei unveränderter Strahlenempfindlichkeit eine Verkürzung der Latenzperiode um 2 Tage.

Bei fraktionierter Strahlenbehandlung nach Konditionierung ergibt sich eine deutliche Toleranzerhöhung, wiederum in Abhängigkeit von der Dosis/Fraktion; der Toleranzgewinn nach $3 \times 5,2$ Gy/Woche ist einer Strahlenfraktion äquivalent.

Die Stimulation mit Adstringentien scheint somit ein möglicher Weg, die Strahlenresistenz der oralen Mukosa ohne Nebenwirkungen zu erhöhen.

SUMMARY

RADIATION RESPONSE OF NORMAL AND STIMULATED MOUSE TONGUE EPITHELIUM

Radiation response of mouse tongue epithelium represents a useful model for acute radiation induced mucositis in man, a frequent and severe complication of the therapy of advanced head and neck cancer.

Ulcerative lesions can be produced either by local irradiation of the epithelium (25 kV X-rays) or - in fractionated treatment - by external irradiation of the snout (300 kV X-rays) followed by a local 'top up'-dose (25 kV).

Such lesions develop within 8-11 d after single doses of X-rays and heal within another 1-4 d. Their frequency is highly dose dependent, the ED_{50} to single doses being 15 Gy

The epithelium shows a marked diurnal rhythm of proliferation. The rate of daily proliferating cells is 27%, the estimated turnover time 3.7 d. The postmitotic G1-phase has a defined duration of 2.5 d.

Regeneration during conventional fractionated treatment (2.5 Gy/F or 3.5 Gy/F five times a week) starts within the first week and then increases, compensating a dose equivalent of 1.7 fractions of 2.5 Gy and of 2.4 fractions of 3.5 Gy in week 2.

This high regenerative capacity can be activated by local application of silver nitrate solution (3%). A maximum of nearly doubled mitotic rate is achieved on day 5 following daily treatment on day 0-2.

When conditioned epithelium is irradiated with single doses of X-rays, the latency time is shortened by 2 d, while the radiosensitivity is unchanged.

After fractionated irradiation of conditioned epithelium (5 x 2.5 Gy/w, 5 x 3.5 Gy/w, 3 x 5.2 Gy/w), a significant increase in radiation tolerance is seen, equivalent to 1.3, 1.0 and 0.9 fractions of 2.5, 3.5 and 5.2 Gy respectively.

It is concluded that chemical stimulation of oral epithelium is a promising approach to increase the therapeutic margin in fractionated radiotherapy.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABOK K., BRUNK U., ERICSSON J.
Morphologic and histochemical studies on the differing radiosensitivity of ductular and acinar cells of the rat submandibular gland
Virchows Arch. (Cell Pathol.), 45, 1984, 443-460
2. ANG K.K., LANDUYT W., XU F.-X., VANUYTSEL L., VAN DER SCHUEREN E.
The effect of small radiation doses per fraction on mouse lip mucosa assessed using the concept of partial tolerance
Radiother. Oncol. 8, 1987, 79-86
3. ANG K.K., XU F.-X., VANUYTSEL L., VAN DER SCHUEREN E.
Repopulation kinetics in irradiated mouse lip mucosa. The relative importance of treatment protraction and time distribution of irradiations
Radiat. Res. 101, 1985, 162-169
4. ANG K.K., XU F.-X., LANDUYT W., VAN DER SCHUEREN E.
The kinetics and capacity of repair of sublethal damage in mouse lip mucosa during fractionated irradiations
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 11, 1985, 1977-1983
5. ANG K.K., LANDUYT W., RIJNDERS A., VAN DER SCHUEREN E.
Differences in repopulation kinetics in mouse skin during split course MFD or daily fractionated irradiations
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10, 1983, 95-99
6. ANG K.K., VAN DER KOEGL A.J., VAN DER SCHUEREN E.
Inhalation anesthesia in experimental radiotherapy: A reliable and time-saving system for multifractionation studies
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 1982, 145-148
7. BARAKAT N.J., TOTO P.D., CHOUKAS N.C.
Aging and cell renewal of oral epithelium
J. Periodontol. 40, 1969, 599-602
8. BARENDSEN G.W.
Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for normal tissue responses
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 1982, 1981-1997
9. BISTROVIC M., BISCAN M., VICULIN T.
RBE of 20 kV and 70 kV X-rays determined for survival of V79 cells
Radiother. Oncol. 7, 1986, 175-180

10. BLOCK P., SEITER I., OEHLERT W.
Autoradiographic studies of the initial cellular response to injury
Exp. Cell Res. 30, 1963, 311-321
11. BOEZEMAN J.B.M., BAUER F.W., DE GROOD R.M.
Flow cytometric analysis of the recruitment of G₀ cells in human epidermis in vivo following tape stripping
Cell Tiss. Kinet. 20, 1987, 99-107
12. BROWN J.M.
Long G₁ or G₀ state: a method of resolving the dilemma for the cell cycle of an in vivo population
Exp. Cell Res. 52, 1968, 565-570
13. BROWN J.M., BERRY R.J.
The relationship between diurnal variation of the number of cells in mitosis and of the number of cells synthesizing DNA in the epithelium of hamster cheek pouch
Cell Tiss. Kinet. 1, 1968, 23-33
14. BURNS E.R., SCHEVING L.E., FAWCETT D.F., GIBBS W.M., GALATZAN R.E.
Circadian influence on the frequency of labeled mitoses method in the stratified squamous epithelium of the mouse esophagus and tongue
Anat. Rec. 184, 1975, 265-274
15. CAMERON J.L.
Cell proliferation, migration and specialisation in the epithelium of the mouse tongue
J. Exp. Zool. 163, 1966, 271-284
16. CHENG V.S.T., DOWNS J., HERBERT D., ARAMANY M.
The function of the parotid gland following radiation therapy for head and neck cancer
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 7, 1981, 253-258
17. CHERRY C.P., GLUCKSMANN A.
Injury and repair following irradiation of salivary glands in male rats
Br. J. Radiol. 32, 1959, 596-607
18. CONGER A.D., WELLS M.A.
Radiation and aging effect on taste structure and function
Radiat. Res. 37, 1969, 31-49
19. CUTRIGHT D.E., BAUER H.
Cell renewal in the oral mucosa and skin of the rat. I. Turnover time
Oral Surgery, Oral Med. and Oral Path. 23, 1967, 249-259

20. DENEKAMP J., BALL M.M., FOWLER J.F.
Recovery and repopulation in mouse skin as a function
of time after X-irradiation
Radiat. Res. 37, 1969, 361-370
21. DOUGLAS B.G., FOWLER J.F.
The effect of multiple small doses of X-rays on skin
reactions in the mouse and a basic interpretation
Radiat. Res. 66, 1976, 401-426
22. EMERY E.W., DENEKAMP J., BALL M.M., FIELD S.B.
Survival of mouse skin epithelial cells following
single and distributed doses of X-rays
Radiat. Res. 41, 1970, 450-466
23. FENG Y., VANUYTSEL L., LANDUYT W., ANG K.K.,
VAN DER SCHUEREN E.
The combined effect of bleomycin and irradiation on
mouse lip mucosa.
1. Influence of timing, sequence and mode of drug
administration with single dose irradiation
Radiother. Oncol. 6, 1986, 143-151
24. FLETCHER G.H.
Textbook of Radiotherapy
2nd edition
pp 120-310
Lea and Febiger, Philadelphia 1973
25. FOWLER J.F.
Review: Total doses in fractionated radiotherapy -
implications of new radiobiological data
Int. J. Radiat. Biol. 46, 1984, 103-120
26. FOWLER J.F., DENEKAMP J., DELAPEYRE C., HARRIS S.R.,
SHELDON P.W.
Skin reactions in mice after multifraction X-ir-
radiation
Int. J. Radiat. Biol. 25, 1974, No. 3, 213-223
27. GARGIULO A.W., WENTZ F.M., ORBAN B.
Mitotic activity of human oral epithelium exposed to
30 per cent hydrogen peroxide
Oral Surgery, Oral Med. and Oral Path. 14, 1961,
474-492
28. GASSER R.F., SCHEVING L.E., PAULY J.E.
Circadian rhythms in the mitotic index of the basal
epithelium and in the uptake rate of ^3H -thymidine by
the tongue of the rat
J. Cell Physiol. 80, 1972, 437-442
29. GELFANT S.
Initiation of mitosis in relation to the cell division
cycle
Exp. Cell Res. 26, 1962, 395-403

30. Gray Laboratory, Annual Report 1986
Mount Vernon Hospital, Northwood, Middlesex
S. 54-55
31. HALL E.J.
Radiobiology for the radiologist
2nd edition
Harper und Row, Publishers Inc.,
1978
32. HAMILTON A.J., BLACKWOOD H.J.J.
Cell renewal of oral epithelium of the rat
J. Anat. 117, 1974, 313-327
33. HAPKE
Arzneimitteltherapie für die tierärztliche Klinik und
Praxis
S. 147
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1983
34. HILL M.W.
Cell renewal in oral epithelia
In: MEYER J., SQUIER A., GERSON S.J. (Ed.)
The structure and function of oral mucosa,
pp 53-81,
Pergamon Press
Oxford, New York, Toronto, Sidney, Paris, Frankfurt,
1984
35. HIMES R.H., KERSEY R.N., HELLER-BETTINGER I., SAMSON F.E.
Action of the vinca alkaloids vincristine, vinblastine
and desacetyl vinblastine amid on microtubules in vitro
Cancer Res. 36, 1976, 3796-3802
36. HORIOT J.C., NABID A., CHAPLAIN G., VAN DEN BOGAERT W.
VAN DER SCHUEREN E.
Clinical experience with multiple daily fractionation
in the radiotherapy of head and neck carcinoma
Cancer Bull. 34, 1982, 230-233
37. HORNSEY S., MYERS R., ANDREOZZI U.
Differences in the effects of anaesthesia on hypoxia
in normal tissues
Int. J. Radiat. Biol. 32, 1977, 609-612
38. ITO M.
Biological effects of X-irradiation an salivary glands
of mice
Radiat. Res. 30, 1967, 283-300
39. IZQUIERDO J.N., GIBBS S.J.
Turnover of cell-renewing populations undergoing
circadian rhythms in cell proliferation
Cell Tiss. Kinet. 7, 1974, 99-111

40. IZQUIERDO J.N., GIBBS S.J.
Circadian rhythms of DNA synthesis and mitotic activity in hamster cheek pouch epithelium
Exp. Cell Res. 71, 1972, 402-408
41. JAMPOLIS S., PIPARD G., HORIOT J.-C., BOLLA M., LE DORZE C.
Preliminary results using twice-a-day fractionation in the radiotherapeutic management of advanced cancers of the head and neck
Am. J. Roentgenol. 129, 1977, 1091-1093
42. JOINER M.C.
The design and interpretation of 'top-up' experiments to investigate the effects of low radiation doses
Int. J. Radiat. Biol. 51, 1987, 115-130
43. JOINER M.C., DENEKAMP J., MAUGHAN R.L.
The use of 'top-up' experiments to investigate the effect of very small doses per fraction in mouse skin
Int. J. Radiat. Biol. 49, 1986, 565-580
44. KIMELDORF D.J., JONES D.C., CASTANERA T.J.
The radiobiology of teeth
Radiat. Res. 20, 1963, 518-540
45. KNEE R., FIELDS R.S., PETERS L.J.
Concomitant boost radiotherapy for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck
Radiother. Oncol. 4, 1985, 1-7
46. KUMMERMEHR J., DÖRR W., MOSES R.
Response of mouse tongue to local irradiation - a model for clinical mucositis
Abstract, 5th annual meeting, ESTRO, 1986
47. KUTEN A., BEN-ARYEH H., BERDICEVSKY I., ORE L., SZARGEL R., GUTMAN D., ROBINSON E.
Oral side effects of head and neck irradiation: correlation between clinical manifestations and laboratory data
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 12, 1986, 401-405
48. LANDUYT W., ANG K.K., VAN DER SCHUEREN E.
Irradiation and cis-DDP on mouse lip mucosa
Br. J. Cancer 54, 1986, 579-586
49. LANDUYT W., THAMES H.D., ANG K.K., VAN DER KOGEL A.J., VAN DER SCHUEREN E.
Kinetics and extent of repair of sublethal damage in mouse lip mucosa and rat spinal cord
Int. J. Radiat. Biol. 50, 1986, 368

50. LANDUYT W., VAN DER SCHUEREN E., ANG K.K.
The effect of actinomycin D on radiation induced reactions of the lip mucosa of mice
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 11, 1985, 1503-1512
51. MAC COMB W.S.
Necrosis in treatment of intraoral cancer by radiation therapy
Am. J. Roentgenol. 87, 1962, 431-440
52. MACIEJEWSKI B., PREUSS-BAYER G., TROTT K.-R.
The influence of the number of fractions and of the overall treatment time on local control and late complication rates in squamous cell carcinoma of the larynx
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 9, 1983, 321-328
53. MAMONTOV S.G.
Diurnal rhythm of mitoses in the epithelium of mouse tongue
Bull. Exp. Biol. Med. 66, 1968, 1277-1278
54. MEYER J., ABT E.
Reduced mitotic activity and atrophy in oral epithelium of the rat following elimination of masticatory movements
Growth 48, 1984, 455-465
55. MIRA J.G., WESCOTT W.B., STARCKE E.N., SHANNON I.L.
Some factors influencing salivary function when treating with radiotherapy
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 7, 1981, 535-5415
56. MOELLER U., KEIDING N., HOUGAARD P.
Circadian variation in mitotic influx in a keratinized epithelium
Virchows Arch. (Cell Pathol.) 48, 1985, 119-133
57. MOSES R., KUMMERMEHR J.
Radiation response of the mouse tongue epithelium
Br. J. Cancer 53, Suppl. VII, 1986, 12-15
58. MOSES R., DÖRR W., KUMMERMEHR J.
Untersuchungen zur diurnalen Rhythmik des Zungenepithels der Maus
Jahresbericht der Arbeitsgruppe für experimentelle Tumorthherapie, Institut für Strahlenbiologie, Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, 1985, S. 62-65
59. MOSSMAN K.L., HENKIN R.I.
Radiation-induced changes in taste acuity in cancer patients
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 4, 1978, 663-670

60. PARKINS C.S., FOWLER J.F., YU S.
A murine model of lip epidermal/mucosal reactions to
X-radiation
Radiother. Oncol. 1, 1983, 159-165
61. PARSONS J.T., BOVA F.J., MILLON R.R.
A re-evaluation of split-course technique for squamous
cell carcinoma of the head and neck
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 6, 1980, 1645-1652
62. POTTEN C.S., WICHMANN H.E., LOEFFLER M., DOBEK K.,
MAJOR D.
Evidence for discrete cell kinetic subpopulations in
mouse epidermis based on mathematical analysis
Cell Tiss. Kinet. 15, 1982, 305-329
63. POTTEN C.S., AL-BARWARI S.E., HUME W.J., SEARLE J.
Circadian rhythms of presumptive stem cells in three
different epithelia of the mouse
Cell Tiss. Kinet. 10, 1977, 557-568
64. QUASTLER H., AUSTIN M.K., MILLER M.
Oral radiation death
Radiat. Res. 5, 1956, 338-353
65. REINHOLD H.S., VISSER A.G.
Multifraction in retrospect; the L-Q model and the
tolerance profile
Int. J. Radiat. Biol. 50, 1986, 369
66. RESOULY A., SVOBODA V.H.J.
Management of advanced head and neck squamous
carcinoma by multiple daily sessions of radiotherapy
and surgery
In: KARCHER K.H., KOGLNIK H.D., REINARTZ G. (Ed.)
Progress in Radio-Oncology
pp 339-347
Raven Press, New York, 1982
67. RUBIN P., CASARETT G.W.
Clinical Radiation Biology
Oral Cavity and Pharynx
pp 120-152
W. B. Saunders Co.,
Philadelphia, London, Toronto, 1968
68. SODICOFF M., PRATT N.E., SHOLLEY M.M.
Ultrastructural radiation injury of rat parotid gland:
a histopathologic dose-response study
Radiat. Res. 58, 1974, 196-208
69. STEPHENS L.C., ANG K.K., SCHULTHEISS T.E., KING G.K.
BROCK W.A., PETERS L.J.
Target cell and mode of radiation injury in rhesus
salivary glands
Radiother. Oncol. 7, 1986, 165-174

70. SUIT H.D., SEDLACEK R.S., SILVER G., DOSORETZ D.
Pentobarbital anesthesia and the response of tumor and normal tissues in the C3Hf/Sed mouse to radiation
Radiat. Res. 104, 1985, 47-65
71. SUIT H.D., SILVER G., SEDLACEK R.S., WALKER A.
Experimental condition and the acute reaction of mouse skin to ionizing radiation
Radiat. Res. 95, 1983, 427-433
72. TANNOCK I.F.
A comparison of the relative efficiencies of various metaphase arrest agents
Exp. Cell Res. 47, 1965, 345-356
73. THAMES H.D., PETERS L.J., WITHERS H.R., FLETCHER G.H.
Accelerated fractionation vs hyperfractionation: rationales for several treatments per day
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 9, 1983, 127-138
74. THAMES H.D., WITHERS H.R., PETERS L.J., FLETCHER G.H.
Changes in early and late radiation responses with altered dose fractionation: implications for dose-survival relationships
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 1982, 219-226
75. TROTT K.-R., KUMMERMEHR J.
What is known about tumour proliferation rates to choose between accelerated fractionation or hyperfractionation
Radiother. Oncol. 3, 1985, 1-9
76. TUCKER S.L.
Tests for the fit of the linear-quadratic model to radiation isoeffect data
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10, 1984, 1933-1939
77. UPTON A.C., BUFFETT R.F., FURTH J., DOHERTY D.G.
Radiation-induced "dental death" in mice
Radiat. Res. 4, 1956, 475-479
78. VAN DEN BOGAERT W., VAN DER SCHUEREN E., VAN TONGELEN C., HORIOT J.-C., CHAPLAIN G., ARCANGELI G., GONZALEZ D., SVOBODA V.
Late results of multiple fractions per day (MPD) with misonidazole in advanced cancer of the head and neck. A pilot study of the EORTC radiotherapy group
Radiother. Oncol. 3, 1985, 139-144
79. VAN DEN BOGAERT W., VAN DER SCHUEREN E., VAN TONGELEN C., HORIOT J.-C., CHAPLAIN G., ARCANGELI G., GONZALEZ D., SVOBODA V.
The feasibility of high-dose multiple daily fractionation and its combination with anoxic cell sensitizers in the treatment of head and neck cancer
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 1982, 1649-1655

80. VAN DER SCHUEREN E., VAN DEN BOGAERT W., ANG K.K.
Radiotherapy with multiple fractions per day
In: PECKHAM M.J., ADAMS G.E., STEEL G.G. (Ed.)
The biological basis of radiotherapy
pp 179-210
Elsevier, Amsterdam, 1983
81. VANUYTSEL L., FENG Y., LANDUYT W., LEER J.W.,
VAN DER SCHUEREN E.
The combined effect of bleomycin and irradiation on
mouse lip mucosa.
2. Influence on the accumulation and repair of
sublethal damage during fractionated irradiation
Radiother. Oncol. 6, 1986, 267-273
82. VANUYTSEL L., VAN DEN BOGAERT W., VAN LIMBERGEN E.,
VAN DER SCHUEREN E.
The role of repopulation in the acute reactions of
skin and oral mucosa during fractionated irradiation
Int. J. Radiat. Biol. 50, 1986, 369
83. WANG C.C., BLITZER P.H., SUIT H.D.
Twice-a-day radiation therapy for cancer of the head
and neck
Cancer 55, 1985, 2100-2104
84. WESCOTT W.B., MIRA J.G., STARCKE E.N., SHANNON I.L.,
THORNBURY J.I.
Alterations in whole saliva flow rate induced by
fractionated radiotherapy
Am. J. Roentgenol. 130, 1978, 145-149
85. WITHERS H.R., CHU A.M., REID B.O., HUSSEY D.H.
Response of mouse jejunum to multifraction radiation
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1, 1975, 41-52
86. WITHERS H.R., MASON K., REID O.B., DUBRAVSKY N.,
BARKLEY H.T., BROWN B.W., SMATHERS J.B.
Response of mouse intestine to neutrons and gamma
rays in relation to the dose fractionation and
division cycle
Cancer 34, 1974, 39-47
87. WITHERS H.R.
The effect of oxygen and anaesthesia on radio-
sensitivity in vivo of epithelial cells of mouse skin
Br. J. Radiol. 40, 1967, 335-343
88. WITHERS H.R.
The dose-survival relationship for irradiation of
epithelial cells of mouse skin
Brit. J. Radiol. 40, 1967, 187-194

89. WITHERS H.R., MASON K.A.
The kinetics of recovery in irradiated colonic mucosa
of the mouse
Cancer 34, 1974, 896-903
90. WRIGHT N., ALISON M. (Ed.)
Methodology in epithelial cell kinetics
In: The biology of epithelial cell populations
Vol. II., pp 97 ff.
Clarendon Press, Oxford, 1984
91. WRIGHT N.A., APPLETON D.R.
The metaphase arrest technique. A critical review
Cell Tiss. Kinet. 13, 1980, 643-663
92. XU F.-X., VAN DER SCHUEREN E., ANG K.K.
Acute reactions of the lip mucosa of mice to
fractionated irradiations
Radiother. Oncol. 1, 1984, 369-374

Herrn Prof. Dr. K. Tempel danke ich für die Überlassung des Themas und für die Anleitung bei der Anfertigung der Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. U. Hagen und Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott für die Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit.

Ich danke Herrn Dr. J. Kummermehr für die Betreuung und Hilfe während der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit.

Desweiteren danke ich der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung für die Erlaubnis zur Nutzung ihrer Einrichtungen.

Den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Experimentelle Strahlentherapie danke ich für die Unterstützung während der Ausführung des experimentellen Teils der Arbeit.

LEBENS LAUF

1. Allgemeines

Ich, Wolfgang Dörr, bin am 29.11.1959 in Förbau, Kreis Hof, Bayern, als erstes Kind von Ernst Gerhard Dörr und Hedwig Gisela Dörr, geb. Gollwitzer, geboren. Ich besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Am 16.11.1985 heiratete ich Elke Sonja Dörr, geb. Konhäuser.

Am 15.01.1988 wurde mein Sohn Matthias Kurt Alexander Dörr geboren.

2. Wohnorte

Bis 1969 lebte ich in Förbau, dann wechselte mein Wohnsitz nach Pilgramsreuth, Kreis Rehau, Bayern, 1973 nach Hof, Bayern. 1978 erfolgte erneut ein Wohnungswechsel nach Döhlau, Kreis Hof. 1980 gründete ich meinen eigenen Haushalt in München.

3. Schulbildung, Wehrdienst, Studium

Der Eintritt in die Volksschule Schwarzenbach/Saale erfolgte 1966, 1969 ein Wechsel in die Grundschule Pilgramsreuth.

Der Übertritt in das Gymnasium Selb fand 1970 statt, 1973 trat ich in das Schiller-Gymnasium Hof über. Das Abiturzeugnis erwarb ich 1979.

Vom 01.07.1979 bis 30.09.1980 leistete ich meinen Wehrdienst in Roding, Oberpfalz.

Im Oktober 1980 nahm ich mein Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Fakultät Tiermedizin, auf. Dieses schloß ich am 11.11.1985 mit bestandenem Staatsexamen ab.

4. Berufsausübung

Seit dem 01.01.1986 bin ich bei der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, 8042 Neuherberg, tätig.

